CA 15-3®

^{125}I IRMA Kit

For the quantitative determination of
CA 15-3 antigen in serum

Instruction Manual
Manuel d'Instructions
Testanleitung
Manual de Instrucciones
Manuale di Istruzioni
Felhasználoi utasítás
Návod k použití
Εγχειρίδιο οδηγιών

REF: R0054

DiaSorin

Stillwater, Minnesota 55082-0285, U.S.A.

TABLE OF CONTENTS

English .... Page 1
Français 7
Deutsch 13
Español 19
Italiano 25
Magyar 31
Česky 37
Ελληνικά 43

IVD **For professional use only!**

Intended Use

In vitro test for the quantitative determination of the CA 15-3® antigen (DF3 defined antigen) in human serum during the follow-up of patients with breast carcinoma.

Summary and Explanation of the Test

The tumour-associated antigen CA 15-3 bears the epitopes of two different monoclonal antibodies, Mab 115D8 and Mab DF3. Mab 115D8 was produced against the surface antigen MAM-6 (MW 400,000) which is found on mammary gland epithelial cells and most breast carcinoma cells (7).

Mab DF3 was formed against membrane antigens of mammary carcinoma cells (8).

The monoclonal antibody reacts with an epitope termed DF3 on a glycoprotein with the molecular weight 290,000. Elevated CA 15-3 assay values are found in patients with breast carcinoma (4,6).

Due to its high sensitivity for metastatic breast carcinoma, CA 15-3 determination is particularly suitable for the diagnosis of recurrence and in monitoring recurrence therapy (9, 10, 11).

Principles of the Procedure

Immunoradiometric assay based upon the “sandwich principle”. The monoclonal antibody 115D8 is used for the coating of the solid phase (coated tube) and the monoclonal antibody DF3 is used for the tracer.
The coating antibody and the tracer antibody react in one reaction step with the CA 15-3 present in calibrators and patient samples. After excess tracer is removed by a washing step, the radioactivity bound to the tube wall is measured in a gamma scintillation counter.

CONTENTS Material Provided

Determinations	**50**
^{125}I-anti-CA 15-3, monoclonal (mouse), red radioactive content (kBq / µCi)	6 mL < 385 /10
6 calibrators A-F (1.0 mL) in phosphate buffer (for concentration, see Quality control report)	1 set
Diluent (0 U/mL) in phosphate buffer	110 mL
Test tubes, coated with anti-CA 15-3, monoclonal (mouse)	50
Control, human, lyophilic (for concentration, see vial label)	0.5 mL

Material required but not provided

- Micropipettes (20 µL, 100 µL, 500 µL) with disposable plastic tips, Multipipette (2000 µL)
- Vortex Mixer
- Manual or automatic washer with aspiration device
- Horizontal shaker
- Gamma scintillation counter
- Alternatively, an appropriate automated analyzer system, if available
- Uncoated polystyrene tubes for the dilution of sera and controls
- Purified Water

Reagents Containing Iodine-125

This kit contains radioactive material which does not exceed 10.1 µCi (372 kBq) of iodine-125. Appropriate precautions and good laboratory practices should be used in the storage, handling, and disposal of this material.

For practitioners or institutions receiving radioisotopes under a general license:

This radioactive material may be received, acquired, possessed and used only by physicians, veterinarians in the practice of veterinary medicine, clinical laboratories or hospitals, and only for in vitro clinical or laboratory tests not involving internal or external administration of the material, or the radiation therefrom, to human beings or animals. Its receipt, acquisition, possession, use and transfer are subject to the regulations and the general license of the U.S. Nuclear Regulatory Commission or of the state with which the Commission has entered into an agreement for the exercise of regulatory authority.

1. Storage of radioactive material should be limited to a specifically designated area.

2. Access to radioactive materials must be limited to authorized personnel only.

3. Do not pipette radioactive material by mouth.

4. Do not eat or drink within designated radioactive work areas.

5. Areas where spills may occur should be wiped up, then washed with an alkali detergent or radiological decontamination solution. Any glassware used must be rinsed completely with water before washing with other laboratory glassware.

For practitioners or institutions receiving radioisotopes under a specific license:

The receipt, use, transfer and disposal of radioactive materials are subject to the regulations and conditions of your specific license.

WARNING: This product contains a chemical known to the State of California to cause cancer.

ATTENTION: Radioactivity printed in the package insert may be slightly different from the radioactivity printed on the box label and on the tracer vial label. The box label and the tracer vial label indicate the actual amount of radioactivity at the calibration date where the package insert indicates the theoretical radioactivity of the kit.

Reagents Containing Sodium Azide

CAUTION: Some reagents in this kit contain sodium azide. Sodium azide may react with lead or copper plumbing to form highly explosive metal azides. On disposal, flush with a large volume of water to prevent azide build-up. For further information, refer to “Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts,” in the Manual Guide-Safety Management No. CDC-22 issued by the Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 1976.

Preparation of Reagents

Allow test components to reach room temperature (18–25°C) prior to testing and mix thoroughly. **(Do not allow foam to form.)**

Open the control carefully (and reconstitute with 0.5 mL of purified water. **(Do not allow foam to form.)** Ensure that lyophilized material adhering to the cap is also dissolved.

Storage of Reagents

Reconstituted control: 1 week at 2–8°C or 4 weeks at –20 °C

Store all other reagents at 2–8°C. Use before the expiry date printed on the packaging.

Opened tubes should be stored in the tube rack. They can then be used until the expiry date given on the kit label.

- Store upright.

- Keep away from direct light.

Sample Collection, Material and Storage

- Collect samples using standard procedures.
- Sample material: serum. Disturbances due to plasma are not known.
- Storage at 2–8°C: 24 hours
- To store for longer periods: freeze at –20°C
- Freezing and thawing samples once does not affect the test results.
- Stored samples should be thoroughly mixed prior to use (vortex mixer).
- Do not use sera which are agglutinated, lipemic, hemolytic, icteric or contaminated.

Interfering Substances

No interference with test results has been observed by concentrations of bilirubin < 0.125 mg/mL, haemoglobin < 500 mg/dL or triglycerides < 12.5 mg/mL.

Procedural Notes

- The individual components of each kit are carefully matched to one another. If any components from different lots are exchanged or mixed up, the manufacturer does not guarantee reliable results
- Strictly adhere to the sequence of the pipetting steps
- Set the measuring time for at least 1 minute.
- This testing kit must not be used after the expiry date printed on the packaging.
- Observe the quality control guidelines for medical laboratories.
- Avoid microbial contamination of the reagents.
- **Rack-by-rack washing is not appropriate. The washing water must be aspirated from the tubes immediately after being added.**

Test Procedure

It is recommended that calibrators and samples are double determined.

As an alternative to manual performance and evaluation, an appropriate automated analyser system can be used at the responsibility of the laboratory.

Pre-dilution of samples and controls

Patient sera and controls must be diluted prior to assaying (1:101).

1. Pipette 2000 µL of diluent into uncoated tubes.
2. Add 20 µL of control or sample and mix thoroughly.

If values above the highest calibrator are expected, samples should be further diluted with the diluent (e.g. by factors 10, 100, 1000).

Important:

All samples and controls have to be pre-diluted prior to testing, even if elevated CA 15-3 serum levels (beyond the calibrator range) necessitate additional dilution steps. The calibrators are to be used undiluted.

3. Pipette 100 µL of undiluted calibrator, pre-diluted control or patient sample into the bottom of a coated tube.

4. Add 100 µL ^{125}I-anti-CA 15-3, mix (vortex mixer).

5. Incubate the tubes for 2 hours (± 5 min) at room temperature (18–25°C) on a horizontal shaker.*

6. Aspirate the liquid.

7. Wash all tubes 3 times with 2 mL of purified water.

8. Measure radioactivity (CPM) in all tubes (at least 1 min.).

Pre-dilution of patient samples and controls

2000 µL	Pipette diluent into an uncoated tube
20 µL	Pipette control or patient sample
	Mix
100 µL	Pipette undiluted calibrator, pre-diluted control or pre-diluted patient sample into the bottom of a test tube
100 µL	Add ^{125}I-anti-CA 15-3
	Mix
2 hrs (± 5 min)	Incubate at room temperature (18–25°C) on a shaker
	Aspirate
3 x 2 mL	Wash with purified water
1 min	Measure (gamma scintillation counter)

*** Keep agitation conditions constant!**
Optimum:
Amplitude 20 mm = 150 rpm
Amplitude 10 mm = 220 rpm
Amplitude < 8 mm = 300 rpm

Calculation of Results

The calibrator curve can be established manually as follows:

1. Determine the mean CPM for each pair of duplicate tubes.

2. Divide the mean CPM of each calibrator (B) by the mean CPM of the highest calibrator (B_{max}) and multiply by 100 in order to obtain the percentage of relative binding (%B/B_{max}) for each calibrator.

3. On semi-log paper, plot the relative binding of each calibrator (%B/B_{max}) on the Y-axis versus the corresponding concentrations on the X-axis.

4. The sample concentrations (U/mL) can be read directly off the calibrator curve from their corresponding relative binding (%B/B_{max}).

If the radioactivity measured is above that of the highest calibrator, the samples must be diluted with the diluent and tested again. With diluted samples the actual serum concentration and the appropriate dilution factor have to be established.

The instrumental calculation of radio-immunological measured values is performed using a spline approximation.

Quality Control

Observe the quality control guidelines for medical laboratories.

Validity and precision of the results should be checked with control sera or pool sera prepared by the laboratory.

The control included with the kit is well suited for in-house quality control in the laboratory.

This control should be simultaneously tested with each test run and treated like patient samples. The expected control range is printed on the control label.

Interpretation of the Results

In healthy adults (n=200), CA 15-3 serum concentrations of 15.5 U/mL ± 12.5 U/mL were found (mean ± 2 x standard deviation).

Since CA 15-3 values may vary depending on the laboratory method used, each laboratory should establish its own reference range.

Limitations of the Procedure

Patients with carcinomas may exhibit CA 15-3 assay values within the normal range. Elevated levels may be found in benign disorders of the breast, ovaries or the liver (2,3), or in ovarian or endometrial carcinoma (1,5).

Therefore, CA 15-3 assay levels may only be interpreted in conjunction with the clinical picture and other diagnostic procedures.

HAMA

Patient samples containing human anti-mouse antibodies (HAMA) may in principle lead to falsely elevated or decreased values. HAMA-neutralising agents are added to the test. However the influencing of results cannot be completely ruled out. These samples should not be used for the CA 15-3 IRMA.

Analytical Data

Calibration

The CA 15-3 IRMA has been calibrated using the Fujirebio CA 15-3 assay.

Measuring range

The measuring range is 2 - 300 U/mL.

High-dose hook

No high-dose hook effect was observed for concentrations up to 12,300 U/mL.

Precision

Intra-assay variation			**Inter-assay variation**		
Range (U/mL)	**CV (%)**	**n=**	**Range (U/mL)**	**CV (%)**	**n=**
20 - 50	2.9	17	20 - 50	4.9	3
70 - 130	2.8	53	70 - 130	4.2	3

Analytical sensitivity

The lower detection limit is < 2.0 U CA 15-3/mL. This detection limit is defined as a value exceeding the zero standard by three standard deviations; it is the lowest CA 15-3 concentration that can be differentiated from zero with statistical significance.

Specificity

Interferences with drugs

No cross-reactivities with doxorubicin, fluorouracil, methotrexate, cyclophosphamide and tamoxifen in therapeutic ranges were found.

Linearity upon Dilution

A patient serum was diluted with diluent and then measured. The measured values were compared with expected values obtained from linear regression.

Original concentration: 241 U/mL

Dilution	Measured value (U/mL)	Expected value (U/mL)	Recovery (%)
1 : 1.25	194	193	101
1 : 2.5	95	97	98
1 : 5	45	48	94
1 : 10	23	24	96

Recovery

A serum with low CA 15-3 content was spiked with different amounts of CA 15-3.

Original concentration: 8.3 U/mL

Measured value (U/mL)	Expected value (U/mL)	Recovery (%)
30.8	31.8	97
27.2	26.0	105
21.5	20.0	107
15.9	14.1	112
11.6	11.2	104

IVD **Pour usage professionnel uniquement !**

Indication

Test *in vitro* pour la détermination quantitative de l'antigène CA 15-3® (antigène défini DF3) dans le sérum humain dans le cadre du suivi des patientes atteintes de carcinome du sein.

Résumé et explication du test

L'antigène tumoral CA 15-3 porte les épitopes correspondant à deux anticorps monoclonaux différents, Mab 115D8 et Mab DF3. L'anticorps Mab 115D8 a été produit contre l'antigène de surface MAM-6 (PM 400.000), que l'on rencontre sur les cellules épithéliales de la glande mammaire et sur la plupart des cellules de carcinome du sein (7).

L'anticorps Mab DF3 a été obtenu contre les antigènes membranaires de cellules de carcinome mammaire (8).

L'anticorps monoclonal réagit avec un épitope dénommé DF3 d'une glycoprotéine de poids moléculaire 290.000. On retrouve des valeurs élevées pour le dosage de CA 15-3 chez les patientes atteintes de carcinome du sein (4,6).

En raison de sa sensibilité élevée vis-à-vis du carcinome métastatique du sein, la trousse de dosage CA 15-3 convient particulièrement bien pour le diagnostic des récurrences et le suivi thérapeutique lors de récurrence (9, 10, 11).

Principes de la procédure

Dosage radio-immunométrique basé sur le "principe du sandwich". L'anticorps monoclonal 115D8 est utilisé pour l'enrobage de la phase solide (tube enduit) et l'anticorps monoclonal DF3 pour le traceur.

L'anticorps d'enrobage et l'anticorps traceur réagissent au cours d'une seule étape réactionnelle avec le CA 15-3 présent dans les étalons et dans les échantillons de patients. Après élimination de l'excès de traceur par une étape de lavage, on mesure la radioactivité liée aux parois du tube dans un compteur à scintillation gamma.

CONTENU Matériel fourni

Déterminations	**50**
^{125}I-anti-CA 15-3, monoclonal (souris), rouge Teneur en radioactivité (kBq / µCi)	6 mL < 385 /10
6 étalons A-F (1,0 mL) dans du tampon phosphate (pour la concentration, voir le rapport de Contrôle qualité)	1 trousse
Diluant (0 U/mL) dans du tampon phosphate	110 mL
Tubes de test, enduits d'anti-CA 15-3, monoclonal (souris)	50
Contrôle, humain, lyophilisé (pour la concentration, voir l'étiquette du flacon)	0,5 mL

CA 15-3® est un nom déposé de Fujirebio Diagnostics Inc.

Matériel requis mais non fourni

- Micropipettes (20 µL, 100 µL, 500 µL) avec embouts en plastique jetables, multipipette (2000 µL)
- Agitateur-mélangeur Vortex
- Système de lavage manuel ou automatique avec dispositif d'aspiration
- Mélangeur horizontal
- Compteur à scintillation gamma
- On peut également utiliser un système d'analyseur approprié si l'on dispose d'un tel système
- Tubes en polystyrène non enduits pour la dilution des sérums et contrôles
- Eau purifiée

Réactifs contenant de l'iode 125

Cette trousse contient un produit radioactif qui ne dépasse pas 10,1 µCi (372 kBq) d'iode-125. Les précautions appropriées et les bonnes pratiques de laboratoire doivent être respectées lors de la conservation, de la manipulation et de l'élimination de ce produit.

Pour les praticiens ou les établissements recevant des radio-isotopes dans le cadre d'une licence générale :

Ce produit radioactif peut être reçu, réceptionné, détenu et utilisé uniquement par des médecins, des laboratoires cliniques, des hôpitaux, des vétérinaires et uniquement pour des analyses cliniques ou de laboratoire in vitro n'impliquant pas l'administration interne ou externe du produit, ni par rayonnement, à l'homme ou à l'animal. Sa réception, son acquisition, sa détention, son utilisation et son transfert sont soumis aux réglementations et à la licence générale de l'U.S. Nuclear Regulatory Commission de l'état avec lequel la Commission a conclu un accord pour l'exercice de l'autorité réglementaire.

1. Le produit radioactif doit être conservé à un endroit désigné.

2. L'accès aux produits radioactifs doit être limité au personnel autorisé uniquement.

3. Ne pas pipeter des solutions radioactives avec la bouche.

4. Ne pas manger, ni boire dans les zones de travail radioactives.

5. En cas de déversement de produits radioactifs dans une zone, nettoyer la zone, puis la laver à l'aide d'un produit détergent à base d'alcali ou d'une solution de décontamination radiologique. Tout article de verre utilisé doit être entièrement lavé à l'eau avant de laver les autres articles de verre du laboratoire.

Pour les praticiens ou les établissements recevant des radio-isotopes dans le cadre d'une licence spécifique :

La réception, l'utilisation, le transfert et la mise au rebut de produits radioactifs sont sujets aux réglementations et conditions de votre licence spécifique.

AVERTISSEMENT : Ce produit contient un produit chimique connu dans l'État de Californie comme étant cancérigène.

ATTENTION : La radioactivité imprimée sur la notice d'utilisation peut être légèrement différente de celle qui est imprimée sur l'étiquette de la boîte et sur l'étiquette du flacon du traceur. Les étiquettes de la boîte et du flacon du traceur indiquent la dose réelle de radioactivité à la date de calibrage, alors que la notice d'utilisation indique la radioactivité théorique de la trousse.

Réactifs contenant de l'azide de sodium

ATTENTION : Certains réactifs de cette trousse contiennent de l'azide de sodium. L'azide de sodium peut réagir avec la plomberie en plomb ou en cuivre et former des azotures ultra-explosifs. Pour leur élimination, rincer à grande eau pour empêcher l'accumulation d'azide. Pour plus d'informations, consulter "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts", dans le manuel Guide-Safety Management n° CDC-22 publié par les Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 1976.

Préparation des réactifs

Laisser tous les composants du test atteindre la température ambiante (18–25°C) avant le test et bien mélanger. **(Éviter la formation de mousse.)**

Ouvrir précautionneusement le contrôle et le reconstituer avec 0,5 mL d'eau purifiée. **(Éviter la formation de mousse.)** Veiller à ce que le produit lyophilisé qui adhère au bouchon soit également dissous.

Stockage des réactifs

Contrôle reconstitué : 1 semaine à 2–8°C ou 4 semaines à –20°C

Conserver tous les autres réactifs à 2–8°C. Utiliser avant la date de péremption figurant sur l'emballage.

Les tubes ouverts doivent être conservés dans le portoir pour tubes. Ils sont alors utilisables jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette de la trousse.

- Conserver à l'endroit.

- Protéger de la lumière directe.

Prélèvement des échantillons, matériel et stockage

- Prélever les échantillons selon les procédures standard.
- Type d'échantillons : sérum. Les perturbations dues au plasma ne sont pas connues.
- Stockage à 2–8°C: 24 heures.
- Pour les conserver pendant de plus longues périodes : les congeler à –20°C.
- Un cycle de congélation-décongélation des échantillons n'affecte pas les résultats du test.
- Les échantillons conservés doivent être soigneusement mélangés avant utilisation (agitateur- mélangeur Vortex).
- Ne pas utiliser des sérums agglutinés, lipémiques, hémolytiques, ictériques ou contaminés.

Substances interférentes

Aucune interférence avec les résultats du test n'a été observée pour des concentrations de bilirubine < 0,125 mg/mL, d'hémoglobine < 500 mg/dL ou de triglycérides < 12,5 mg/mL.

Remarques concernant la procédure

- Les composants individuels de chaque trousse sont parfaitement appariés les uns aux autres. Si l'on intervertit ou que l'on mélange des composants de différents lots, le fabricant ne garantit pas la fiabilité des résultats.
- Respecter scrupuleusement la séquence des étapes de pipetage.
- Régler le temps de mesure sur au moins 1 minute.
- Ne pas utiliser cette trousse de dosage au-delà de la date de péremption figurant sur l'emballage.
- Respecter les directives de contrôle de qualité à l'usage des laboratoires médicaux.
- Éviter toute contamination microbienne des réactifs.
- **Ne pas effectuer le lavage portoir par portoir. L'eau de lavage doit être aspirée hors des tubes immédiatement après avoir été ajoutée.**

Procédure de test

Il est conseillé d'analyser les étalons et les échantillons en double.

Plutôt que de réaliser et d'évaluer manuellement le dosage, on peut également utiliser un système d'analyseur automatisé, cela sous la responsabilité du laboratoire.

Prédilution des échantillons et des contrôles

Les sérums de patients et les contrôles doivent être dilués avant le dosage (1:101).

1. Pipeter 2000 µL de diluant dans des tubes non enduits.

2. Ajouter 20 µL de contrôle ou d'échantillon et bien mélanger.

Si l'on s'attend à des valeurs supérieures à celles de l'étalon le plus haut, diluer les échantillons avec le diluant (en utilisant par exemple des facteurs de dilution de 10, 100, 1000).

Important :
Tous les échantillons et contrôles doivent être prédilués avant le dosage, même si des taux élevés de CA 15-3 sérique (au-delà de l'intervalle d'étalonnage) nécessitent des étapes de dilution supplémentaires. Les étalons doivent être utilisés non dilués.

3. Pipeter 100 µL d'étalon non dilué, de contrôle prédilué ou d'échantillon de patient dans le fond d'un tube enduit.

4. Ajouter 100 µL de ^{125}I-anti-CA 15-3, mélanger (agitateur-mélangeur Vortex).

5. Incuber les tubes pendant 2 heures (± 5 min) à température ambiante (18–25°C) sur un mélangeur horizontal.*

6. Aspirer le liquide.

7. Laver tous les tubes 3 fois avec 2 mL d'eau purifiée.

8. Mesurer la radioactivité (CPM) de tous tubes (pendant au moins 1 minute.).

Prédilution des échantillons de patients et des contrôles

2000 µL	Pipeter du diluant dans un tube non enduit
20 µL	Pipeter le contrôle ou l'échantillon du patient
	Mélanger
100 µL	Pipeter l'étalon non dilué, le contrôle prédilué ou l'échantillon de patient prédilué dans le fond d'un tube à essai
100 µL	Ajouter le ^{125}I-anti-CA 15-3
	Mélanger
2 heures (± 5 min)	Incubate at room temperature (18–25°C) on a shaker
	Aspirer
3 x 2 mL	Laver avec de l'eau purifiée
1 min	Mesurer (compteur à scintillation gamma)

*** Conserver des conditions d'agitation constantes !**
Optimum :
Amplitude 20 mm = 150 rpm
Amplitude 10 mm = 220 rpm
Amplitude < 8 mm = 300 rpm

Calcul des résultats

On peut tracer la courbe d'étalonnage manuellement en procédant comme suit :

1. Déterminer les CPM moyens pour chaque paire de tubes analysés en double.

2. Diviser les CPM moyens de chaque étalon (B) par les CPM moyens de l'étalon le plus élevé (B_{max}) et multiplier par 100 pour obtenir le pourcentage de liaison relative ($\%B/B_{max}$) pour chaque étalon.

3. Sur papier semi-logarithmique, reporter les liaisons relatives de chaque étalon ($\%B/B_{max}$) sur l'axe Y et les concentrations correspondantes (U/mL) sur l'axe X.

4. On peut lire les concentrations des échantillons (U/mL) directement sur la courbe d'étalonnage à partir de la liaison relative correspondante ($\%B/B_{max}$).

Si la radioactivité mesurée dépasse celle de l'étalon le plus élevé, diluer les échantillons avec le diluant et recommencer le test. Avec des échantillons dilués, il est nécessaire de déterminer la concentration réelle dans le sérum et le facteur de dilution approprié.

Le calcul automatique des valeurs radio-immunologiques mesurées s'effectue au moyen d'une approximation utilisant une courbe cubique.

Contrôle de qualité

Respecter les directives de contrôle de qualité à l'usage des laboratoires médicaux.

Il convient de contrôler la validité et la précision des résultats au moyen de sérums de contrôle ou de pools de sérums préparés par le laboratoire.

Le contrôle inclus dans la trousse convient parfaitement pour le contrôle de qualité interne au sein du laboratoire.

Ce contrôle doit être analysé en même temps que chaque série de tests et traité de la même manière que les échantillons de patients. La plage de contrôle attendue figure sur l'étiquette correspondante.

Interprétation des résultats

Chez des adultes en bonne santé (n=200), on a observé des concentrations sériques en CA 15-3 de 15,5 U/mL ± 12,5 U/mL (moyenne ± 2x écart-type).

Comme les valeurs de CA 15-3 sont susceptibles de varier en fonction de la méthode utilisée par le laboratoire, chaque laboratoire doit établir sa propre plage de valeurs de référence.

Limites du dosage

Les patientes atteintes de carcinomes peuvent présenter des valeurs du dosage CA 15-3 se situant dans la plage des valeurs normales. On peut observer des valeurs élevées en présence de pathologies bénignes du sein, des ovaires ou du foie (2,3), ainsi que lors de carcinome ovarien ou endométrial (1,5).

Par conséquent, les résultats du dosage CA 15-3 doivent impérativement être interprétés en association avec le tableau clinique et avec d'autres procédures diagnostiques.

Anticorps humains anti-souris

Les échantillons de patients contenant des anticorps humains anti-souris (HAMA) risquent en principe de fournir des résultats faussement élevés ou bas. Des agents neutralisant les anticorps humains anti-souris sont ajoutés au test. On ne peut néanmoins pas exclure totalement une influence sur les résultats. De tels échantillons ne doivent pas être utilisés pour le dosage CA 15-3 IRMA.

Données analytiques

Étalonnage

La trousse CA 15-3 IRMA a été étalonnée au moyen du dosage CA 15-3 de Fujirebio.

Plage de mesure

La plage de mesure est de 2 à 300 U/mL.

Infléchissement pour des doses élevées

Aucun effet d'infléchissement pour des doses élevées n'a été observé pour des concentrations allant jusqu'à 12.300 U/mL.

Précision

Variation intra-essai			Variation entre les essais		
Intervalle (U/mL)	CV (%)	n=	Intervalle (U/mL)	CV (%)	n=
20 - 50	2,9	17	20 - 50	4,9	3
70 - 130	2,8	53	70 - 130	4,2	3

Sensibilité analytique

La limite inférieure de détection est < 2,0 U de CA 15-3/mL. Cette limite de détection est définie comme la valeur dépassant l'étalon zéro de trois écarts-type ; il s'agit de la plus faible concentration de CA 15-3 pouvant être distinguée de zéro de manière statistiquement significative.

Spécificité

Interférences avec des médicaments

Aucune réactivité croisée n'a été observée avec la doxorubicine, le fluoro-uracile, le méthotrexate, la cyclophosphamide et le tamoxifène aux doses thérapeutiques.

Linéarité après dilution

Un sérum de patient a été dilué avec du diluant, puis dosé. Les valeurs mesurées ont été comparées aux valeurs attendues obtenues par régression linéaire.

Concentration originale : 241 U/mL

Dilution	Valeur mesurée (U/mL)	Valeur escomptée (U/mL)	Récupération (%)
1 : 1,25	194	193	101
1 : 2,5	95	97	98
1 : 5	45	48	94
1 : 10	23	24	96

Récupération

Un sérum de patient avec une faible teneur en CA 15-3 a été dopé avec différentes quantités de CA 15-3.

Concentration originale : 8,3 U/mL

Valeur mesurée (U/mL)	Valeur escomptée (U/mL)	Récupération (%)
30,8	31,8	97
27,2	26,0	105
21,5	20,0	107
15,9	14,1	112
11,6	11,2	104

IVD Nur für professionellen Gebrauch!

Verwendungszweck

In-vitro -Test zur quantitativen Bestimmung des CA 15-3®-Antigens (durch DF3 definiertes Antigen) in Humanserum während der Nachsorge bei Patienten mit Brustkarzinom.

Zusammenfassung und Erläuterung des Tests

Das tumorassoziierte Antigen CA 15-3 trägt die Epitope von zwei verschiedenen monoklonalen Antikörpern, Mab 115D8 und Mab DF3. Mab 115D8 wurde als Antikörper gegen das Oberflächenantigen MAM-6 (MW 400.000) hergestellt, das bei Brustdrüsenepithelzellen und den meisten Brustkarzinomzellen gefunden wird (7).

Mab DF3 wurde gegen Membranantigene von Brustkarzinomzellen gebildet (8).

Der monoklonale Antikörper reagiert mit einem als DF3 bezeichneten Epitop auf einem Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 290.000. Erhöhte CA 15-3-Testwerte werden bei Patienten mit Brustkarzinom gefunden (4,6).

Aufgrund der hohen Sensitivität des Antigens für metastatische Brustkarzinome ist die CA 15-3-Bestimmung besonders zur Diagnose von Rückfällen und zur Überwachung von Rückfalltherapien geeignet (9, 10, 11).

Verfahrensprinzipien

Immunoradiometrischer Assay auf der Grundlage des "Sandwich-Prinzips". Der monoklonale Antikörper 115D8 wird für die Beschichtung der Festphase (beschichtetes Röhrchen) verwendet, während der monoklonale Antikörper DF3 für den Tracer verwendet wird.

Der Beschichtungsantikörper und der Tracer-Antikörper reagieren in einem einzigen Reaktionsschritt mit dem in den Kalibratoren und Patientenproben vorhandenen CA 15-3. Nachdem der überschüssige Tracer durch einen Spülschritt entfernt wurde, wird die an die Röhrchenwand gebundene Radioaktivität in einem Gammaszintillationszähler gemessen.

INHALT Im Lieferumfang enthaltenes Material

Bestimmungen	**50**
^{125}I-anti-CA 15-3, monoklonal (Maus), rot Gehalt an Radioaktivität (kBq/µCi)	6 mL < 385/10
6 Kalibratoren A-F (1,0 mL) in Phosphatpuffer (Konzentration: siehe Qualitätskontrollbericht)	1 Satz
Diluent (0 U/mL) in Phosphatpuffer	110 mL
Teströhrchen, beschichtet mit anti-CA 15-3, monoklonal (Maus)	50
Kontrolle, human, lyophil (Konzentration: siehe Fläschchenetikett)	0,5 mL

Zusätzlich benötigte Materialien

- Mikropipetten (20 µL, 100 µL und 500 µL) mit Einweg-Kunststoffspitzen, Multipipette (2000 µL)
- Vortex-Mixer
- Manueller oder automatischer Wäscher mit Aspirationsvorrichtung
- Horizontaler Schüttler
- Gammaszintillationszähler
- Alternativ ein geeignetes automatisiertes Analysatorsystem (falls verfügbar)
- Unbeschichtete Polystyrol-Röhrchen für die Verdünnung von Seren und Kontrollen
- Destilliertes Wasser

Reagenzien mit Jod-125

Dieses Kit enthält radioaktives Material mit maximal 10,1 µCi (372 kBq) Jod-125. Bei der Lagerung, Handhabung und Entsorgung dieses Materials sind entsprechende Vorsichtsmaßnahmen und gute Laborpraktiken einzuhalten.

Für Ärzte bzw. Institutionen, die im Rahmen einer Generallizenz Radioisotope erhalten, gilt Folgendes:

Dieses radioaktive Material darf nur von Ärzten, veterinärmedizinisch tätigen Tierärzten, klinischen Laboren oder Krankenhäusern und nur für klinische In-vitro-Tests oder In-vitro-Labortests, bei denen das Material oder dessen Strahlung keinen Menschen oder Tieren intern oder extern verabreicht wird, empfangen, erworben, besessen und verwendet werden. Entgegennahme, Erwerb, Besitz, Verwendung und Weitergabe des Materials unterliegen den Vorschriften und der Generallizenz der US. Nuclear Regulatory Commission bzw. des Staates, mit dem diese Behörde ein Abkommen zur Ausübung ihrer Überwachungsfunktion abgeschlossen hat.

1. Die Lagerung des radioaktiven Materials ist auf einen speziell dafür bestimmten Bereich zu beschränken.
2. Der Zugang zu radioaktivem Material ist nur befugten Personen zu gestatten.
3. Radioaktives Material nicht mit dem Mund pipettieren.
4. Im vorgesehenen radioaktiven Arbeitsbereich nicht essen oder trinken.
5. Verschüttetes Material aufwischen und den Bereich anschließend mit alkalischem Reinigungsmittel oder radiologischer Dekontaminationslösung wischen. Alle benutzten Glasbehälter gründlichst mit Wasser spülen, bevor sie zusammen mit anderen Laborbehältern aus Glas ausgewaschen werden.

Für Ärzte oder Einrichtungen, die im Rahmen einer Sondergenehmigung Radioisotope erhalten, gilt Folgendes:

Entgegennahme, Gebrauch, Weitergabe und Entsorgung radioaktiven Materials unterliegen den Vorschriften und Bedingungen der jeweiligen Sondergenehmigung.

VORSICHT: Dieses Produkt enthält eine Chemikalie, die nach Angaben des US-Bundesstaates Kalifornien krebserregend ist.

WICHTIGER HINWEIS: Die auf der Packungsbeilage angegebene Radioaktivität kann von der auf dem Etikett des Kartons und des Tracer-Fläschchens angegebenen etwas abweichen. Sowohl das Etikett des Kartons als auch das Etikett des Tracer-Fläschchens geben den tatsächlichen Wert der Radioaktivität am Kalibrationsdatum an, während die Packungsbeilage die theoretische Radioaktivität des Kits angibt.

Reagenzien mit Natriumazid

ACHTUNG: Einige Reagenzien in diesem Kit enthalten Natriumazid, das ggf. mit Blei- oder Kupferleitungen reagieren und höchst explosive Metallazide bilden kann. Zur Entsorgung mit reichlich Wasser nachspülen, um Azidbildung zu vermeiden. Weitere Informationen finden Sie im Abschnitt "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts" des Handbuches Safety Management Nr. CDC-22, herausgegeben vom Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, 1976.

Vorbereitung der Reagenzien

Die Testkomponenten vor dem Testen auf Raumtemperatur (18–25°C) bringen und gründlich mischen. (Schaumbildung vermeiden.)

Die Kontrolle vorsichtig öffnen und mit 0,5 mL destilliertem Wasser rekonstituieren. **(Schaumbildung vermeiden.)** Sicherstellen, dass das am Deckel haftende lyophilisierte Material ebenfalls gelöst wird.

Lagerung der Reagenzien

Rekonstituierte Kontrolle: 1 Woche bei 2–8°C oder 4 Wochen bei –20°C

Alle anderen Reagenzien bei 2–8°C lagern und vor dem auf der Packung angegebenen Verfallsdatum verwenden.

Geöffnete Röhrchen sollten im Röhrchenständer aufbewahrt werden. Sie können in diesem Fall bis zu dem auf dem Kit-Etikett angegebenen Verfallsdatum verwendet werden.

- Reagenzien aufrecht lagern

- Reagenzien aus direktem Licht fernhalten

Probengewinnung, -material und -lagerung

- Proben mit Hilfe von Standardverfahren gewinnen
- Probenmaterial: Serum. Störungen aufgrund von Plasma sind nicht bekannt.
- Lagerung bei 2–8°C: 24 Stunden
- Zur längeren Lagerung die Proben bei –20°C einfrieren
- Einmaliges Einfrieren und Auftauen der Proben hat keine Auswirkungen auf die Testergebnisse
- Gelagerte Proben müssen vor dem Gebrauch gründlich gemischt werden (Vortex-Mixer)
- Keine agglutinierten, lipämischen, hämolytischen, ikterischen oder kontaminierten Seren verwenden

Störende Substanzen

Bei Bilirubin-Konzentrationen von < 0,125 mg/mL, Hämoglobin-Konzentrationen von < 500 mg/dL bzw. Triglycerid-Konzentrationen von < 12,5 mg/mL wurde keine Beeinträchtigung der Testergebnisse beobachtet.

Anmerkungen zum Verfahren

- Die einzelnen Komponenten jedes Kits sind sorgfältig aufeinander abgestimmt. Wenn Komponenten aus verschiedenen Chargen ausgetauscht oder vermischt werden, garantiert der Hersteller keine zuverlässigen Ergebnisse.
- Die Reihenfolge der Pipettierschritte strikt einhalten
- Die Messzeit auf mindestens 1 Minute einstellen
- Dieses Testkit darf nach dem auf der Packung angegebenen Verfallsdatum nicht verwendet werden
- Die Qualitätskontrollrichtlinien für medizinische Labors einhalten
- Mikrobielle Kontamination der Reagenzien vermeiden
- **Es ist nicht angemessen, ständerweise zu spülen. Das Spülwasser muss sofort nach der Zugabe aus den Röhrchen aspiriert werden.**

Testverfahren

Es wird empfohlen, Kalibratoren und Proben in doppelter Ausfertigung zu bestimmen.

Als Alternative zur manuellen Durchführung und Auswertung kann auf Verantwortung des Labors ein geeignetes automatisiertes Analysatorsystem verwendet werden.

Vorverdünnung von Proben und Kontrollen

Patientenseren und Kontrollen müssen vor dem Testen verdünnt werden (1:101).

1. 2000 µL Diluent in unbeschichtete Röhrchen pipettieren.

2. 20 µL Kontrolle bzw. Probe hinzugeben und gründlich mischen.

Wenn Werte oberhalb des höchsten Kalibrators erwartet werden, müssen die Proben weiter mit dem Diluent verdünnt werden (z. B. mit den Faktoren 10, 100 und 1000).

Wichtig:
Alle Proben und Kontrollen müssen vor dem Testen vorverdünnt werden, selbst wenn bei erhöhten CA 15-3-Serumkonzentrationen (oberhalb des Kalibratorbereichs) zusätzliche Verdünnungsschritte notwendig sind. Die Kalibrators müssen unverdünnt verwendet werden.

3. 100 µL unverdünnten Kalibrator, vorverdünnte Kontrolle bzw. vorverdünnte Patientenprobe auf den Boden eines beschichteten Teströhrchens pipettieren.

4. 100 µL ^{125}I-anti-CA 15-3 hinzugeben und mischen (Vortex-Mixer).

5. Die Röhrchen 2 Stunden (± 5 Min.) lang bei Raumtemperatur (18–25°C) auf einem horizontalen Schüttler inkubieren.*

6. Die Flüssigkeit aspirieren.

7. Alle Röhrchen dreimal mit 2 mL destilliertem Wasser spülen.

8. Die Radioaktivität (CPM) in allen Röhrchen messen (mindestens 1 Min.).

Vorverdünnung von Patientenproben und Kontrollen

2000 µL	Diluent in ein unbeschichtetes Röhrchen pipettieren
20 µL	Kontrolle bzw. Patientenprobe pipettieren
	Mischen
100 µL	Unverdünnten Kalibrator, vorverdünnte Kontrolle bzw. Vorverdünnte Patientenprobe auf den Boden eines Teströhrchens pipettieren
100 µL	^{125}I-anti-CA 15-3 hinzugeben
	Mischen
2 Std. (± 5 Min.)	Bei Raumtemperatur (18–25°C) auf einem Schüttler inkubieren*
	Aspirieren
3 x 2 mL	Mit destilliertem Wasser spülen
1 Min.	Messen (Gammaszintillationszähler)

*** Die Schüttelbedingungen konstant halten!**
Optimum:
Amplitude 20 mm = 150 rpm
Amplitude 10 mm = 220 rpm
Amplitude < 8 mm = 300 rpm

Ergebnisberechnung

Die Eichkurve kann folgendermaßen manuell erstellt werden:

1. Den mittleren CPM-Wert für jedes Paar von doppelten Röhrchen bestimmen.
2. Den mittleren CPM-Wert der einzelnen Kalibratoren (B) durch den mittleren CPM-Wert des höchsten Kalibrators (B_{max}) dividieren und mit dem Faktor 100 multiplizieren, um den Prozentsatz der relativen Bindung (%B/B_{max}) für die einzelnen Kalibratoren zu erhalten.
3. Auf halblogarithmischem Papier die relativen Bindungen der einzelnen Kalibratoren (%B/B_{max}) auf der Y-Achse gegen die entsprechenden Konzentrationen auf der X-Achse auftragen.
4. Die Probenkonzentrationen (U/mL) können in der Eichkurve direkt aus den entsprechenden relativen Bindungen (%B/B_{max}) abgelesen werden.

Wenn die gemessene Radioaktivität über der Radioaktivität des höchsten Kalibrators liegt, müssen die Proben mit dem Diluent verdünnt und erneut getestet werden. Bei den verdünnten Proben müssen die tatsächliche Serumkonzentration und der entsprechende Verdünnungsfaktor festgelegt werden.

Die instrumentelle Berechnung von radioimmunologisch gemessenen Werten wird mit Hilfe einer Spline-Approximation durchgeführt.

Qualitätskontrolle

Die Qualitätskontrollrichtlinien für medizinische Labors müssen eingehalten werden.

Die Gültigkeit und Präzision der Ergebnisse sollte mit vom Labor erstellten Kontroll- oder Poolseren kontrolliert werden.

Die in dem Kit enthaltene Kontrolle ist gut für die laborinterne Qualitätskontrolle geeignet.

Diese Kontrolle sollte gleichzeitig mit jedem Testdurchgang getestet und wie Patientenproben behandelt werden. Der erwartete Kontrollbereich ist auf dem Etikett der Kontrolle aufgedruckt.

Interpretation der Ergebnisse

Bei gesunden Erwachsenen (n=200) wurden CA 15-3-Serumkonzentrationen von 15,5 U/mL ± 12,5 U/mL gefunden (Mittelwert ± 2 x Standardabweichung).

Da CA 15-3-Werte je nach dem angewendeten Laborverfahren unterschiedlich sein können, sollte jedes Labor seinen eigenen Referenzbereich festlegen.

Grenzen des Verfahrens

Patienten mit Karzinomen weisen möglicherweise CA 15-3-Testwerte innerhalb des Normalbereichs auf. Erhöhte Konzentrationen werden möglicheweise bei gutartigen Erkrankungen von Brust, Ovarien oder Leber (2,3) oder bei Ovarial- oder Endometriumkarzinomen gefunden (1,5).

Daher dürfen die CA 15-3-Testwerte nur in Verbindung mit dem klinischen Bild und anderen diagnostischen Verfahren interpretiert werden.

HAMA

Patientenproben mit humanen Anti-Maus-Antikörpern (HAMA) können im Prinzip zu fälschlich erhöhten oder verringerten Werten führen. Obwohl dem Test HAMA-neutralisierende Agenzien hinzugefügt werden, kann die Beeinflussung der Ergebnisse nicht vollständig ausgeschlossen werden. Diese Proben sollten nicht für den CA 15-3 IRMA Assay verwendet werden.

Analysedaten

Kalibrierung

Der CA 15-3 IRMA Assay wurde anhand des CA 15-3 Assays von Fujirebio kalibriert.

Messbereich

Der Messbereich beträgt 2-300 U/mL.

High-dose-hook-Effekt

Für Konzentrationen von bis zu 12.300 U/mL wurde kein High-dose-hook-Effekt beobachtet.

Genauigkeit

Intra-Testvarianz Bereich (U/mL)	VK (%)	n=	Inter-Testvarianz Bereich (U/mL)	VK (%)	n=
20 - 50	2,9	17	20 - 50	4,9	3
70 - 130	2,8	53	70 - 130	4,2	3

Analytische Sensitivität

Die untere Nachweisgrenze beträgt < 2,0 U CA 15-3/mL. Diese Nachweisgrenze ist als ein Wert definiert, der den Nullstandard um drei Standardabweichungen überschreitet; dies ist die niedrigste CA 15-3-Konzentration, die mit statistischer Bedeutung von Null unterschieden werden kann.

Spezifität

Beeinträchtigungen durch Arzneimittel

Es wurden keine Kreuzreaktivitäten mit Doxorubicin, Fluorouracil, Methotrexat, Zyklophosphamid und Tamoxifen in therapeutischen Bereichen festgestellt.

Verdünnungslinearität

Ein Patientenserum wurde mit Diluent verdünnt und anschließend gemessen. Die gemessenen Werte wurden mit Erwartungswerten verglichen, die aus einer linearen Regression erhalten wurden.

Ursprüngliche Konzentration: 241 U/mL

Verdünnung	Messwert (U/mL)	Erwartungswert (U/mL)	Wiederfindung (%)
1 : 1,25	194	193	101
1 : 2,5	95	97	98
1 : 5	45	48	94
1 : 10	23	24	96

Wiederfindung

Ein Serum mit geringem CA 15-3-Gehalt wurde mit verschiedenen Mengen von CA 15-3 versetzt.

Ursprüngliche Konzentration: 8,3 U/mL

Messwert (U/mL)	Erwartungswert (U/mL)	Wiederfindung (%)
30,8	31,8	97
27,2	26,0	105
21,5	20,0	107
15,9	14,1	112
11,6	11,2	104

IRMA para CA 15-3 — Instrucciones de uso

REF R0054 — 50 ensayos — Español

IVD — **Sólo para uso profesional**

Indicaciones

Prueba *in vitro* para la determinación cuantitativa del antígeno CA 15-3® (antígeno definido DF3) en suero humano durante el seguimiento de pacientes con carcinoma de mama.

Resumen y explicación del ensayo

El antígeno asociado al tumor CA 15-3 soporta los epitopos de dos anticuerpos monoclonales diferentes, Mab 115D8 y Mab DF3. El Mab 115D8 se produce como reacción contra el antígeno de superficie MAM-6 (PM 400.000) presente en las células epiteliales de las glándulas mamarias y en la mayoría de las células de carcinomas de mama (7).

El Mab DF3 se forma contra los antígenos de membrana de las células de carcinomas de mama (8).

El anticuerpo monoclonal reacciona con un epitopo designado como DF3 en una glicoporteína con el peso molecular 290.000. Se han encontrado valores de ensayo elevados de CA 15-3 en pacientes con carcinoma de mama (4,6).

Debido a su alta sensibilidad metastásica en carcinomas de mama, la determinación de CA 15-3 resulta especialmente adecuada para el diagnóstico de la recurrencia y la monitorización de la terapia de recurrencia (9, 10, 11).

Principios del procedimiento

Ensayo inmunorradiométrico basado en el “principio de sandwich”. Se ha utilizado el anticuerpo monoclonal 115D8 para el recubrimiento de la fase sólida (tubo recubierto), y el anticuerpo monoclonal DF3 para el trazador.

El anticuerpo de recubrimiento y el anticuerpo del trazador reaccionan en una reacción de un paso con el CA 15-3 presente en los calibradores y las muestras de pacientes. Tras retirar el trazador de exceso con un paso de lavado, la radiactividad unida a la pared del tubo se mide con un contador de centelleo de rayos gamma.

CONTENIDO Material suministrado

Determinaciones	**50**
^{125}I-anti-CA 15-3, monoclonal (ratón), rojo contenido radiactivo (kBq / µCi)	6 mL < 385 /10
6 calibradores A-F (1,0 mL) en tampón de fosfato 1 juego (para ver los datos de concentración, consulte el informe de control de calidad)	1 juego
Diluyente (0 U/mL) en tampón de fosfato	110 mL
Tubos de ensayo, recubiertos de anti-CA 15-3, monoclonal (ratón)	50
Control, humano, liofílico (para ver los datos de concentración, consulte la etiqueta del vial)	0.5 mL

CA 15-3® es marca registrada de Fujirebio Diagnostics Inc.

Material necesario pero no suministrado

- Micropipetas (20 µL, 100 µL, 500 µL) con punta de plástico desechable, Multipipeta (2000 µL)
- Mezclador vórtex.
- Lavador automático o manual con dispositivo de aspiración
- Agitador horizontal
- Contador de centelleo de rayos gamma
- Alternativamente, un sistema analizador automático, si está disponible
- Tubos de poliestireno no recubiertos para la dilución de los sueros y controles
- Agua purificada

Reactivos con contenido de yodo 125

Este equipo contiene material radiactivo que no excede de 10,1 µCi (372 kBq) de yodo 125. Para almacenar, manejar y desechar este material, deben adoptarse las precauciones necesarias y las prácticas de laboratorio correctas.

Para facultativos o instituciones que reciben radioisótopos con licencia genérica:

Este material radiactivo sólo deben recibirlo, adquirirlo, poseerlo y utilizarlo médicos, veterinarios que practiquen la medicina veterinaria, laboratorios clínicos u hospitales, y sólo para pruebas in vitro clínicas o de laboratorio que no conlleven la administración interna o externa del material ni su radiación a seres humanos ni animales. Su recepción, adquisición, posesión, uso y transferencia se rigen por la normativa y la licencia genérica de la Comisión Reguladora Nuclear del estado en el que la Comisión haya llegado a un acuerdo para el ejercicio de su autoridad reguladora.

1. El almacenamiento del material radiactivo debe limitarse a un área destinada específicamente a tal efecto.
2. El acceso a materiales radiactivos debe estar limitado únicamente al personal autorizado.
3. No recoja material radiactivo con la pipeta usando la boca.
4. No coma ni beba dentro de las áreas destinadas a trabajos radiactivos.
5. Las áreas donde se produzcan derrames deben limpiarse y después lavarse con un detergente alcalino o una solución descontaminante radiológica. Todo recipiente de vidrio utilizado debe enjuagarse completamente con agua antes de lavarse con otros recipientes de laboratorio.

Para facultativos o instituciones que reciben radioisótopos con licencia específica:

La recepción, uso, transferencia y eliminación de los materiales radiactivos se rigen por la normativa y las condiciones de la licencia en cuestión.

ADVERTENCIA: este producto contiene una sustancia química conocida por el Estado de California como causante de cáncer.

ATENCIÓN: la radiactividad impresa en el interior del paquete puede diferir ligeramente de la impresa en la etiqueta de la caja y en la del vial del trazador. La etiqueta de la caja y la del trazador indican la cantidad real de radiactividad en la fecha de la calibración, mientras que el prospecto del paquete indica la radiactividad teórica del equipo.

Reactivos con contenido de azida sódica

PRECAUCIÓN: algunos reactivos de este equipo contienen azida sódica. La azida sódica puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre y formar azidas metálicas altamente explosivas. Antes de desecharlos, enjuáguelos con abundante agua para impedir la acumulación de azidas. Para obtener más información, consulte “Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts” en Manual Guide-Safety Management nº CDC-22, publicado por Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 1976.

Preparación de los reactivos

Antes de utilizar los componentes del ensayo deje que alcancen la temperatura ambiente (18–25°C) y mézclelos bien. **(No permita que se forme espuma).**

Abra cuidadosamente cada control y reconstitúyalo con 0,5 mL de agua purificada. **(No permita que se forme espuma).** Asegúrese de que se disuelve también el material liofilizado adherido al tapón.

Almacenamiento de los reactivos

Control reconstituido: 1 semana a 2–8°C o 4 semanas a –20°C.

Almacene todos los demás reactivos a 2–8°C. Utilice los reactivos antes de la fecha de caducidad impresa en el paquete.

Los tubos abiertos deben guardarse en la gradilla para tubos. Pueden utilizarse después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del equipo.

- Almacene los reactivos en posición vertical.

- Manténgalos alejados de la luz directa.

Recogida de muestras, material y almacenamiento

- Las muestras deben recogerse mediante los procedimientos estándar.
- Material de muestra: suero. No se conocen alteraciones debidas al plasma.
- Almacenamiento a 2–8°C: 24 horas
- Para periodos de almacenamiento más prolongados, congele las muestras a –20°C
- La aplicación de un ciclo de congelación-descongelación a las muestras no afecta al resultado de las pruebas.
- Las muestras almacenadas deben mezclarse cuidadosamente antes de su uso (en un mezclador vórtex).
- Evite el uso de sueros aglutinados, lipémicos, hemolíticos, ictéricos o contaminados.

Sustancias interferentes

No se han observado interferencias en los resultados de las pruebas con concentraciones de < 0,125 mg/mL de bilirrubina, < 500 mg/dL de hemoglobina o < 12,5 mg/mL de triglicéridos.

Notas al procedimiento

- Cada componente del kit de ensayo ha sido elegido cuidadosamente para verificar la coincidencia con los demás. El fabricante no garantiza la fiabilidad de los resultados si se intercambia o se mezcla un componente cualquiera con otro de un lote distinto.
- Siga rigurosamente la secuencia de pasos para la dosificación con pipeta.
- Defina el tiempo de medición a un (1) minuto como mínimo.
- Este equipo de ensayo no debe utilizarse después de la fecha de caducidad impresa en el paquete.
- Siga rigurosamente las directrices de control de calidad de los laboratorios médicos.
- Evite la contaminación microbiana de los reactivos.
- **No se recomienda el uso de lavados gradilla a gradilla. Aspire el agua de lavado de los tubos inmediatamente después de agregarla.**

Procedimiento del ensayo

Se recomienda realizar series de ensayos duplicadas de calibradores y muestras.

Como método alternativo para la obtención manual del resultado y su evaluación, se puede utilizar también un sistema de analizador automático apropiado bajo la responsabilidad del laboratorio.

Predilución de las muestras y controles

Antes de proceder al ensayo, diluya los sueros de pacientes y controles (1:101).

1. Dosifique con pipeta 2000 µL de diluyente en tubos no recubiertos.

2. Agregue 20 µL de control o muestra y mezcle bien.

Si se esperan valores por encima de los valores más altos del calibrador, es aconsejable diluir más las muestras con el diluyente (por ejemplo, con factores de dilución 10, 100, 1000).

Importante:
Antes del ensayo, prediluya todas las muestras y controles, incluso si los niveles de suero de CA 15-3 elevados (superiores al rango del calibrador) precisan de pasos de dilución adicionales. Los estándares deben utilizarse sin diluir.

3. Dosifique con pipeta 100 µL de calibrador no diluido, control prediluido o muestra de paciente en el fondo de un tubo recubierto.

4. Agregue 100 µL de ^{125} I-anti-CA 15-3, y mezcle (en un mezclador vórtex).

5. Incube los tubos durante 2 horas (± 5 min) a temperatura ambiente (18–25°C) en un agitador horizontal.*

6. Aspire el líquido.

7. Lave todos los tubos 3 veces con 2 mL de agua purificada.

8. Mida la radiactividad (CPM) de todos los tubos (durante 1 minuto como mínimo).

Predilución de las muestras de pacientes y controles

2000 µL	Dosifique con pipeta diluyente en un tubo no recubierto
20 µL	Dosifique con pipeta control o muestra de paciente
	Mezcle
100 µL	Dosifique con pipeta calibrador no diluido, control prediluido o muestra depaciente prediluida en el fondo de un tubo de ensayo
100 µL	Agregue ^{125}I-anti-CA 15-3
	Mezcle
2 horas (± 5 min)	Incube a temperatura ambiente (18–25°C) en un agitador*
	Aspire
3 x 2 mL	Lave con agua purificada
1 min	Mida (con un contador de centelleo de rayos gamma)

*** ¡Mantenga constantes las condiciones de agitación!**
Valores óptimos:
Amplitud 20 mm = 150 rpm
Amplitud 10 mm = 220 rpm
Amplitud < 8 mm = 300 rpm

Cálculo de resultados

La curva de calibración se puede establecer manualmente con el procedimiento descrito a continuación:

1. Determine la media de CPM de cada par de tubos duplicados.
2. Divida la media de CPM de cada calibrador (B) por la media de CPM del calibrador más alto ($B_{máx}$) y multiplique por 100 para obtener el porcentaje de unión relativa (% $B/B_{máx}$) de cada calibrador.
3. En un papel milimetrado semilogarítmico, trace las uniones relativas de cada calibrador (% $B/B_{máx}$) en el eje Y frente a las concentraciones correspondientes (U/mL) en el eje X.
4. Las concentraciones de las muestras (U/mL) se pueden leer directamente en la curva de calibración a partir de sus uniones relativas correspondientes (% $B/B_{máx}$).

Si la reactividad medida es superior a la del calibrador más alto, la muestras deberán diluirse con el diluyente y ser sometidas a ensayo de nuevo. Con las muestras diluidas deberá establecerse de nuevo la concentración de suero y el factor de dilución apropiado. Para el cálculo instrumental de los valores radioinmunológicos medidos se ha utilizado una aproximación spline.

Control de calidad

Siga las directrices de control de calidad de los laboratorios médicos.

Se deberá comprobar la validez y la precisión de los resultados mediante sueros de control o pool de sueros preparados por el laboratorio.

El control incluido en este equipo resulta muy adecuado para realizar el control de calidad interno de cada laboratorio.

Este control debe comprobarse simultáneamente con cada serie de ensayos y tratarse como las muestras de paciente. El rango de control previsto aparece impreso en la etiqueta del control.

Interpretación de los resultados

En adultos sanos (n = 200) se hallaron concentraciones de CA 15-3 en suero de 15,5 U/mL ± 12,5 U/mL (media ± 2 x desviación estándar).

Dado que los valores de CA 15-3 pueden variar en función del método de laboratorio utilizado, cada laboratorio debe establecer su propio rango de referencia.

Limitaciones del procedimiento

Las pacientes con carcinomas pueden mostrar valores de ensayo de CA 15-3 dentro del rango normal. Se pueden observar valores elevados en pacientes con desórdenes benignos en mama, ovarios o hígado (2,3), o con carcinoma ovárico o endometrial (1,5).

Por lo tanto, los valores de ensayo de CA 15-3 sólo deben interpretarse junto con la imagen clínica y otros procedimientos de diagnóstico.

HAMA

Las muestras de paciente que contengan anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA) pueden, en principio, conducir a valores erróneamente elevados o reducidos. El ensayo lleva añadidos activos neutralizantes de HAMA. No obstante, no es posible descartar completamente la influencia en los resultados. Las muestras no deberán utilizarse con el CA 15-3 IRMA .

Datos analíticos

Calibración

Para calibrar el CA 15-3 IRMA se ha utilizado el método de ensayo para CA 15-3 de Fujirebio.

Rango de medición

El rango de medición es de 2–300 U/mL.

Efecto de gancho a concentraciones altas

No se ha observado efecto de gancho para concentraciones de hasta 12.300 U/mL.

Precisión

Variación intra – ensayo Rango (U/mL)	CV (%)	n=	Variación inter - ensayo Rango (U/mL)	CV (%)	n=
20 - 50	2,9	17	20 - 50	4,9	3
70 - 130	2,8	53	70 - 130	4,2	3

Sensibilidad analítica

El límite de detección más bajo es de < 2,0 U CA 15-3/mL. El límite de detección se ha definido como un valor que supera el estándar cero para tres desviaciones estándar; se trata de la concentración de CA 15-3 más baja que puede distinguirse de cero con importancia estadística.

Especificidad

Interferencias con fármacos

No se han encontrado interferencias cruzadas con doxorubicina, fluoruracil, metotrexato, ciclofosfamida y tamixofén dentro de los rangos terapéuticos.

Linealidad sobre dilución

El suero de paciente se diluyó con diluyente y se midió a continuación. Los valores medidos se compararon con los valores previstos obtenidos de la regresión lineal.

Concentración original: 241 U/mL

Dilución	Valor medido (U/mL)	Valor previsto (U/mL)	Recuperación (%)
1 : 1,25	194	193	101
1 : 2,5	95	97	98
1 : 5	45	48	94
1 : 10	23	24	96

Recuperación

Se inyectó suero de paciente con bajo contenido de CA 15-3 con distintas cantidades de CA 15-3.

Concentración original: 8,3 U/mL

Valor medido (U/mL)	Valor previsto (U/mL)	Recuperación (%)
30,8	31,8	97
27,2	26,0	105
21,5	20,0	107
15,9	14,1	112
11,6	11,2	104

IVD **Esclusivamente per uso professionale!**

Uso previsto

Test *in vitro* per la determinazione quantitativa dell'antigene CA 15-3® (antigene DF3 definito) nel siero umano per controlli clinici di routine di pazienti affette da carcinoma della mammella.

Sommario e spiegazione del test

L'antigene CA 15-3 associato a tumore esprime gli epitopi di due diversi anticorpi monoclonali, Mab 115D8 e Mab DF3. L'anticorpo Mab 115D8 è stato prodotto utilizzando l'antigene di superficie MAM-6 (PM 400.000) presente nelle cellule epiteliali della ghiandola mammaria e nella maggior parte delle cellule del carcinoma della mammella (7).

L'anticorpo Mab DF3 è stato prodotto utilizzando antigeni di cellule del carcinoma della mammella (8).

L'anticorpo monoclonale reagisce con un epitopo denominato DF3 su una glicoproteina di peso molecolare 290.000. Valori elevati di CA 15-3 sono presenti in pazienti con carcinoma della mammella (4,6).

Grazie alla sua elevata sensibilità verso il carcinoma della mammella metastatico, la determinazione di CA 15-3 è particolarmente utile per la diagnosi di recidive e per il monitoraggio della relativa terapia (9, 10, 11).

Principi della procedura

Analisi immunoradiometrica basata sul “principio sandwich”. L'anticorpo monoclonale 115D8 serve per il rivestimento della fase solida (provetta rivestita), mentre l'anticorpo monoclonale DF3 serve per il tracciante.

L'anticorpo di rivestimento e per il tracciante reagiscono in un'unica reazione con il CA 15-3 presente nei calibratori e nei campioni del paziente. Dopo la rimozione del tracciante in eccesso mediante lavaggio, la radioattività che rimane sulle pareti della provetta viene misurata con un contatore ad emissione di scintille gamma.

CONTENUTO Materiale fornito

Determinazioni	**50**
^{125}I-anti-CA 15-3, monoclonale (topo), rosso contenuto radioattivo (kBq / µCi)	6 mL < 385 /10
6 calibratori A-F (1,0 mL) in tampone fosfato (per le concentrazioni, vedere il rapporto per il controllo di qualità)	1 serie
Diluente (0 U/mL) in tampone fosfato	110 mL
Provette, rivestite con anti-CA 15-3, monoclonale (topo)	50
Controlli, umani, liofili (per le concentrazioni, vedere l'etichetta sulla fiala)	0,5 mL

CA 15-3® è un marchio registrato della Fujirebio Diagnostics Inc.

Materiale necessario, non fornito in dotazione

- Micropipette (20 µL, 100 µL, 500 µL) con punte in plastica monouso, Multipipetta (2000 µL)
- Mixer Vortex
- Dispositivo per il lavaggio manuale o automatico completo di aspiratore
- Agitatore orizzontale
- Contatore ad emissione di scintille gamma
- In alternativa, un adeguato sistema analizzatore automatizzato
- Provette in polistirene non rivestite per la diluizione di sieri e controlli
- Acqua purificata

Reagenti contenenti iodio-125

Questo kit contiene materiale radioattivo che non supera 10,1 µCi (372 kBq) di iodio-125. Adottare precauzioni adeguate e le buone pratiche di laboratorio per la conservazione, la manipolazione e lo smaltimento di questo materiale.

Per i professionisti o gli istituti che utilizzano radioisotopi con una licenza generale:

Questo materiale radioattivo può essere consegnato, acquisito, conservato e usato unicamente da personale medico, veterinari abilitati alla pratica di medicina veterinaria, laboratori clinici o ospedali e unicamente per test in vitro clinici o di laboratorio che non prevedano la somministrazione interna o esterna del materiale, o di radiazioni da esso derivanti, su persone o animali. L'acquisto, il possesso, la conservazione, l'uso e il trasferimento sono soggetti alle norme e alla licenza generale della Nuclear Regulatory Commission statunitense o dello stato con cui la Commissione ha stipulato un accordo per l'esercizio dell'autorità normativa.

1. La conservazione del materiale radioattivo deve essere limitata ad un'area specificatamente designata.
2. L'accesso ai materiali radioattivi deve essere limitato esclusivamente al personale autorizzato.
3. Non usare la bocca per versare con la pipetta materiale radioattivo.
4. Non mangiare o bere nelle aree di lavoro designate per materiale radioattivo.
5. Le zone dove possono verificarsi perdite devono essere pulite, quindi lavate con detergente alcalino o soluzione per la decontaminazione radiologica. Tutti gli oggetti in vetro usati devono essere accuratamente risciacquati con acqua prima di lavarli con altri oggetti in vetro del laboratorio.

Per i professionisti o gli istituti che utilizzano radioisotopi con una licenza specifica:

L'acquisto, l'uso, il trasferimento e lo smaltimento di materiali radioattivi sono soggetti alle norme e alle condizioni della licenza specifica.

AVVERTENZA: questo prodotto contiene un prodotto chimico noto nello Stato della California per provocare cancro.

ATTENZIONE: la radioattività riportata sulle istruzioni allegate alla confezione può essere leggermente diversa dalla radioattività riportata sull'etichetta della scatola e sull'etichetta della fiala di tracciante. Le etichette sulla scatola e sulla fiala di tracciante indicano la quantità effettiva di radioattività alla data di calibrazione, mentre il materiale informativo della confezione indica la radioattività teorica del kit.

Reagenti contenenti sodio azide

PRECAUZIONE: alcuni reagenti di questo kit contengono sodio azide. La sodio azide può reagire con componenti in piombo o rame e formare quindi azidi metalliche altamente esplosive. Al momento dello smaltimento, lavare con abbondante acqua al fine di evitare la formazione di azide. Per ulteriori informazioni, consultare "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts", nel manuale Guide-Safety Management No. CDC-22 pubblicato dai Centri per il controllo e la prevenzione delle malattie di Atlanta, GA, 1976.

Preparazione dei reagenti

Lasciare che tutti i componenti raggiungano la temperatura ambiente (18–25°C) prima di eseguire il test e agitare accuratamente **(evitare la formazione di schiuma)**.

Aprire con cautela il controllo e ricostituire con 0,5 mL di acqua purificata **(evitare la formazione di schiuma)**. Controllare che anche il materiale liofilizzato che aderisce al tappo sia disciolto.

Conservazione dei reagenti

Controllo ricostituito: 1 settimana a 2–8°C o 4 settimane a –20°C

Conservare tutti gli altri reagenti a 2–8°C. Usare prima della data di scadenza stampata sulla confezione.

Le provette aperte non devono essere conservate nel portaprovette. Possono essere utilizzate fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta del kit.

- Conservare in posizione diritta.

- Tenere lontano dalla luce diretta.

Prelievo dei campioni, materiale e conservazione

- Prelevare i campioni secondo le procedure standard.
- Tipo di campione: siero. Non sono state riferite alterazioni dovute al plasma.
- Conservazione a 2–8°C: 24 ore
- Per tempi di conservazione più lunghi: congelare a –20°C
- Il congelamento e lo scongelamento dei campioni una sola volta non influisce sui risultati.
- I campioni che sono stati conservati dovranno essere accuratamente mescolati prima dell'uso (con mixer vortex).
- Non usare sieri agglutinati, lipemici, emolitici, itterici o contaminati.

Sostanze interferenti

Non sono state notate interferenze con i risultati dei test a concentrazioni di bilirubina < 0,125 mg/mL, emoglobina < 500 mg/dL o trigliceridi < 12,5 mg/mL.

Note sulla procedura

- I singoli componenti del kit sono accuratamente abbinati fra loro. Se i componenti vengono scambiati o sostituiti con componenti di lotti diversi, il produttore non garantisce risultati affidabili.
- Attenersi rigorosamente alla sequenza delle operazioni con pipetta.
- Regolare il tempo di misurazione ad almeno 1 minuto.
- Questo kit non deve essere usato dopo la data di scadenza stampata sulla confezione.
- Osservare le linee guida per il controllo di qualità previste per i laboratori medici.
- Evitare contaminazioni microbiche dei reagenti.
- **È sconsigliato il lavaggio del carosello. Aspirare l'acqua di lavaggio dalle provette immediatamente dopo l'aggiunta.**

Procedura

Si consiglia la doppia determinazione dei campioni e dei calibratori.

In alternativa alle performance e alla valutazione manuale, si può utilizzare un adeguato analizzatore automatizzato su responsabilità del laboratorio.

Prediluizione dei campioni e dei controlli

Diluire i sieri dei pazienti e i controlli prima di eseguire l'analisi (1:101).

1. Iniettare con pipetta 2000 µL di diluente nelle provette non rivestite.

2. Aggiungere 20 µL di controllo o campione e mescolare accuratamente.
Se si prevedono letture superiori rispetto al calibratore maggiore, i campioni dovranno essereulteriormente diluiti con diluente (ad esempio, a fattori 10, 100, 1000).

Importante:
Tutti i campioni e controlli devono essere prediluiti prima dell'analisi, anche se livelli sierici elevati di CA 15-3 (oltre il range del calibratore) necessitano di diluizioni supplementari. Gli standard dovranno essere utilizzati non diluiti.

3. Iniettare con pipetta 100 µL di calibratore non diluito, controllo o campione paziente prediluito sul fondo di una provetta rivestita.

4. Aggiungere 100 µL di ^{125}I-anti-CA 15-3, mescolare (con mixer vortex).

5. Lasciare le provette in incubazione per 2 ore (± 5 min) a temperatura ambiente (18–25°C) su un agitatore orizzontale.*

6. Aspirare il liquido.

7. Lavare tutte le provette tre volte con 2 mL di acqua purificata.

8. Misurare la radioattività (CPM) in tutte le provette (per almeno 1 minuto).

Prediluizione dei campioni e dei controlli

2000 µL	Iniettare con pipetta il diluente in una provetta non rivestita
20 µL	Iniettare con pipetta il controllo o il campione del paziente
	Mescolare
100 µL	Iniettare con pipetta il calibratore non diluito, il controllo o il campione paziente prediluito sul fondo di una provetta
100 µL	Aggiungere ^{125}I-anti-CA 15-3
	Mescolare
2 ore (± 5 min)	Lasciare in incubazione a temperatura ambiente (18–25°C) su un agitatore*
	Aspirare
3 x 2 mL	Lavare con acqua purificata
1 min	Misurare (con contatore ad emissione di scintille gamma)

*** Mantenere costanti le condizioni di agitazione!**
Ottimale:
Ampiezza 20 mm = 150 rpm
Ampiezza 10 mm = 220 rpm
Ampiezza < 8 mm = 300 rpm

Calcolo dei risultati

La curva di calibrazione viene stabilita manualmente come segue:

1. Stabilire il CPM medio per ogni serie di provette duplicate.
2. Dividere il CPM medio di ogni calibratore (B) per il CPM medio del calibratore maggiore (B_{max}) e moltiplicare per 100 per ottenere la percentuale del legame relativo (%B/ B_{max}) per ogni calibratore.
3. Su carta millimetrata semi-logaritmica, tracciare il legame relativo di ciascun calibratore (%B/ B_{max}) sull'asse Y in rapporto alle concentrazioni corrispondenti sull'asse X.
4. Leggere direttamente le concentrazioni dei campioni (U/mL) sulla curva di calibrazione in base al corrispondente legame relativo (%B/ B_{max}).

Se la radioattività misurata supera quella del calibratore maggiore, i campioni dovranno essere diluiti con il diluente e analizzati nuovamente. Con campioni diluiti, si dovrà stabilire la concentrazione reale di siero e l'adeguato fattore di diluizione.

Il calcolo strumentale dei valori radioimmunologici viene eseguito mediante approssimazione spline.

Controllo di qualità

Attenersi alle linee guida per il controllo di qualità per i laboratori medici.

La validità e la precisione dei risultati devono essere verificate con sieri di controllo o pool preparati dal laboratorio.

Il controllo fornito con il presente kit è specifico per eseguire in laboratorio il controllo di qualità.

Questo controllo dovrà essere testato simultaneamente con ogni serie di analisi e trattato come i campioni dei pazienti. Il range previsto per il controllo è stampato sull'etichetta del controllo.

Interpretazione dei risultati

In adulti sani (n=200), sono state rilevate concentrazioni sieriche di CA 15-3 di 15,5 U/mL ± 12,5 U/mL (deviazione standard media ± 2).

Poiché i valori di CA 15-3 possono variare in base alle metodiche di laboratorio adottate, ogni laboratorio dovrà stabilire range di riferimento propri.

Limiti della procedura

Pazienti affette da carcinoma possono presentare valori di CA 15-3 entro il range normale. Livelli elevati si possono osservare in tumori benigni alla mammella, alle ovaie o al fegato (2,3), oppure in carcinoma alle ovaie o all'endometrio (1,5).

Pertanto, i livelli di CA 15-3 dovranno essere interpretati esclusivamente unitamente al quadro clinico e ad altre procedure diagnostiche.

HAMA

Campioni di pazienti contenenti anticorpi anti-topo (HAMA) possono in teoria dare valori erroneamente elevati o bassi. Al test sono aggiunti agenti HAMA neutralizzanti. Non si può tuttavia escludere completamente l'influenza sui risultati. Tali campioni non dovranno essere usati per l'analisi CA 15-3 IRMA.

Dati analitici

Calibrazione

Il test CA 15-3 IRMA è stato calibrato in base al dosaggio Fujirebio CA 15-3.

Range di misurazione

Il range di misurazione è compreso fra 2 - 300 U/mL.

Effetto gancio

Nessun effetto gancio è stato osservato con concentrazioni fino a 12.300 U/mL.

Precisione

Variazione intra-analisi Range (U/mL)	CV (%)	n=	Variazione inter-analisi Range (U/mL)	CV (%)	n=
20 - 50	2,9	17	20 - 50	4,9	3
70 - 130	2,8	53	70 - 130	4,2	3

Sensibilità analitica

Il limite minimo di rilevazione è < 2,0 U CA 15-3/mL. Questo limite di rilevazione è definito come valore superiore allo zero in base a tre deviazioni standard; è la concentrazione minima di CA 15-3 che si differenzia da zero con significato statistico.

Specificità

Interferenze con i farmaci

Non sono state rilevate reattività crociate con doxorubicina, fluorouracile, metotressato, ciclofosfamide e tamoxifen nei range terapeutici.

Linearità della diluizione

Il siero di un paziente è stato diluito con diluente e quindi misurato. I valori rilevati sono stati confrontati con i valori attesi ottenuti dalla regressione lineare.

Concentrazione originale: 241 U/mL

Diluizione	Valore misurato (U/mL)	Valore atteso (U/mL)	Recupero (%)
1 : 1,25	194	193	101
1 : 2,5	95	97	98
1 : 5	45	48	94
1 : 10	23	24	94

Recupero

In un siero con basso contenuto di CA 15-3 sono state aggiunte quantità diverse di CA 15-3.

Concentrazione originale: 8,3 U/mL

Valore misurato (U/mL)	Valore atteso (U/mL)	Recupero (%)
30,8	31,8	97
27,2	26,0	105
21,5	20,0	107
15,9	14,1	112
11,6	11,2	104

IVD Kizárolag szakmai használatra!

Felhasználási terulet

In vitro teszt CA 15-3® antigén (DF3 által meghatározott antigén) kvantitativ meghatározására humán szérumbol emlo carcinomás betegek nyomon kovetésére.

A teszt áttekintése és magyarázata

A tumorhoz kotott CA 15-3 antigén két kulonbozo monoklonális antitest kötő epitopot tartalmaz, Mab 115D8-hoz és Mab DF3-hoz. Mab 115D8 tartalmaz egy ujabb felszini antigént MAM-6 (MW 400,000), mely az emlo mirigy epithelium sejtjeiben és más emlo carcinoma sejtekben van jelen (7).

Mab DF3-t tartalmazzák az emlo carcinoma sejtek membrán antigénjei is (8).

A monoklonális antitest reagál a DF3 koto 290,000 molekuláris tomegu glikoprotein epitoppal. Emelkedett CA 15-3 érték figyelheto meg emlo carcinomában szenvedo betegeknél (4,6).

Mivel nagy specificitásu az áttétes emlo carcinomára nézve, a CA 15-3 meghatarozás foként a visszaesés diagnosztikájában és a megfelelo terápiás kezelés monitorozásában játszik szerepet (9, 10, 11).

Meghatározás elve

“Szendvics elv”-en alapulo immunoradiometrikus assay. A monoklonális 115D8 antitest a szilárd fázishoz van kotve (bevonatos cso) a DF3 monoklonális antitestet pedig a tracer tartalmazza.
A kotott és a tracerben jelen lévo antitestek egy lépésben lépnek reakcioba a kalibrátorokban, illetve a beteg mintákban jelen lévo CA 15-3-mal. A tracer felesleg mosási lépés során kerul eltávolitásra, majd a cso falán fennmarado radioaktivitás szcintillácios gammaszámláloval mérheto.

A készlet tartalma

Meghatározások száma	**50**
^{125}I-anti-CA 15-3, monoklonális (egér), piros Radioaktivitás (kBq / µCi)	6 mL < 385 /10
6 kalibrátorok A-F (1.0 mL) foszfát pufferben (koncentrácio a minoségi tanusitványon feltuntetve)	1 készlet
Higito (0 U/mL) foszfát pufferben	110 mL
Teszt csovek, anti-CA 15-3 bevonattal, monoklonális (egér)	50
Kontroll, humán, liofilizált (koncentrácio az uveg cimkéjén feltuntetve)	0.5 mL

Meghatározáshoz szukséges egyéb anyagok

- Mikropipetták (20 µL, 100 µL, 500 µL) egyszer használatos muanyag heggyel, Multipipetta (2000 µL)
- Vortex Mixer
- Manuális, vagy automata moso leszivo egységgel
- Horizontális rázo
- Szcintillácos gammaszámlálo
- Automata analizátor rendszer, ha rendelkezésre áll
- Bevonat mentes polisztirol cso a minták és kontrollok higitásához
- Desztillált viz

I-125 tartalmu reagensek

Ez a készlet olyan radioaktiv anyagokat tartalmaz melyek I-125 aktivitása nem haladja meg a 10.1 µCi (372 kBq)-t. Helyes elokészités és megfelelo laboratoriumi gyakorlat szukséges az anyagok tárolásánál, kezelésénél és a hulladékkezelésnél.

Egyetemes szabályok radioizotopok kezeléséhez:

Ezeket a radioaktiv anyagokat csak orvosok, vagy állatorvosok szerezhetik be, birtokolhatják és használhatják humán és állat gyogyászatban, klinikai laboratoriumokban, vagy korházakban kizárolag in vitro klinikai, vagy laboratoriumi tesztekben, melyek nem foglalják magukban a humán, illetve állati szervezet kulso, vagy belso kezelését, arra irányulo sugárzást. Ezen termékek beszerzése, birtoklása, használata szállitása a U.S. Nuclear Regulatory Commission szabályozása alá esik.

1. A radioaktiv anyagokat korulhatárolt, speciálisan jelolt teruleten kell tárolni.
2. A radioaktiv anyagokhoz csak arra jogosult személyek férhetnek.
3. Tilos a radioaktiv ayagok szájjal torténo pipettázása.
4. A radioaktiv munkához kijelolt teruleten enni és inni tilos.
5. A teruletet ahová radioaktiv anyag lottyen ki fel kell torolni, majd alkali detergenssel, vagy radioaktivitást dekontaminálo oldattal kell felmosni. Az uvegedényeket alaposan ki kell obliteni vizzel mielott más laboratoriumi edénnyel egyutt kerulne mosásra.

A radioaktiv anyagok kezelésénél a kovetkezo speciális szabályok érvényesek:

A radioaktiv anyagok kezelésének, használatának, szállitásának és hulladékezelésének szabályozása saját szabályozás alá esik.

FIGYELMEZTETÉS: A készlet olyan vegyuleteket tartalmaz melyek rákkelto hatása ismert.

FIGYELMEZTETÉS: A csomagolás mellékletén feltuntetett radioaktivitás érték némileg eltér a dobozon és a tracer uvegcse cimkéjén feltuntetett radioaktivitás értékektol. A dobozon és a traceres uveg cimkéjén feltuntetett érték a kalibrácio idején mért aktuális radioaktivitást mutatja, mig a csomagolás mellékletént feltuntetett érték a készlet teoretikus radioaktivitását adja meg.

Sodium-azid tartalmu reagensek

FIGYELMEZTETÉS: A készlet néhány reagense sodium-azid-ot tartalmaz. A sodium-azid olom és réz tartalmu vizvezetékekkel reakcioba lépve robbanásveszélyes fém-azidokat képez. A hulladékot bo vizzel engedje le a felszabadulo azidok kitapadásának megakadályozására. További információkat a “Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts,” in the Manual Guide-Safety Management No. CDC-22 issued by the Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 1976 olvashat.

Reagensek elokészitése

Mérés elott a teszt valamennyi komponensét helyezze szobahomérsékletre (18–25°C) és alaposan keverje ossze. **(Elkerulve a habképzodést.)**

A kontrollt ovatosan kell kinyitni (vákuum) és feloldani 0.5 mL desztillált vizben. **(Kerulje a habképzodést.)** Gyozodjon meg rola, hogy az uvegcse falára kitapadt liofilizált anyag is feloldodott.

Reagensek tárolása

Feloldott kontroll: 1 hét 2–8°C-on, vagy -20°C-on 4 hétig

Valamennyi reagens 2–8°C-on tárolando. A csomagoláson feltuntetett lejárati ido elott felhasználando.

A kibontott csoveket a csotartoban kell tárolni. Ezek a készlet cimkéjén feltuntetett lejárati ideig használhatoak.

- Tárolás alatt tartsa fuggolegesen.

- Tartsa távol kozvetlen fénytol.

Mintavétel, mintatipus és tárolás

- A mintavétel általános szabályai érvényesek.
- Mintatipus: szérum. Plazma zavaro hatása nem ismert.
- Tárolás 2–8°C-on: 24 ora.
- Hosszabb tárolás: fagyasztva –20°C-on.
- A fagyasztott minta csak egyszer olvaszthato fel.
- A felolvasztott mintákat használat elott alaposan ossze kell keverni (vortex mixer).
- Ne használjon agglutinált, haemolitikus, lipémiás, icterikus vagy szennyezet mintákat.

Interferálo tényezok

A bilirubin < 0.125 mg/mL, hemoglobin < 500 mg/dL , vagy triglycerid < 12.5 mg/mL koncentrácioban nem okoz interferenciát az eredményben.

Modszer leirás

- A kulonbozo készletek egyes komponenseinek osszemérése nagy korultekintést igényel. Kulonbozo LOT számu komponensek keverése, osszecserélése a mérés pontosságának bizonytalanságához vezet.
- Ragaszkodjon a megadott pipettázási sorrendhez.
- A gamma számlálo mérési idejét legkevesebb 1 percre kell beállitani.
- A készletet tilos a csomagoláson feltuntetett lejárati ido után használni.
- Tartsa szem elott a diagnosztikai laboratoriumok minoségbiztositási irányelveit.
- Ovja a reagenseket a mikrobális szennyezodésektol.
- **A mosást ne rack-enként végezze. A mosofolyadékot hozzáadást kovetoen azonnal le kell szivni.**

Teszt protokoll

Javasolt a kalibrátorok és minták duplikátumban torténo mérése.
A manuális feldolgozást és az automata analizátor használatát a laboratorium saját felelosséggel választhatja.

Minták és kontrollok elohigitása

A beteg mintákat és a kontrollokat a meghatározás elott elo kell higitani (1:101).

1. Pipettázzon 2000 µL higitot bevonat mentes csovekbe.

2. Mérjen hozzá 20 µL kontrollt, vagy mintát és alaposan keverje ossze.

Amennyiben a várt érték magasabb a legnagyobb koncentrácioju kalibrátor értékénél, a mintát a higitoval tovább kell higitani (10, 100, 1000-szeres faktorral).

Fontos:

A mérést megelozoen végezze el az elohigitást a mintákra és a kontrollokra, igy az emelkedett CA 15-3 érték (kalibrácios tartomány feletti) mérhetové válik ujabb higitási lépés nélkul. A kalibrátorok higitás nélkul használhatoak.

3. Pipettázzon 100 µL higitatlan kalibrátort, elohigitott kontrollt, vagy beteg mintát a bevonatos csovekbe.

4. Mérjen hozzá 100 µL ^{125}I-anti-CA 15-3-at, keverje ossze (vortex mixer).

5. Inkubálja a csoveket 2 orát (± 5 perc) szobahomérsékleten (18–25°C) horizontális rázon.*

6. Szivja le a folyadékot.
7. Mosson minden csovet 3x2 mL desztillált vizzel.
8. Mérje meg valamennyi csoben a radioaktivitást (CPM, legalább 1 perc).

Minták és kontrollok elohigitása

2000 µL	Higito pipettázása bevonat nélkuli csovekbe
20 µL	Kontroll és minta bepipettázása
	Keverés
100 µL	Higitatlan kalibrátor, elohigitott kontroll és minta bepipettázása bevonatos csovekbe
100 µL	^{125}I-anti-CA 15-3 hozzámérése
	Keverés
2 hrs (± 5 min)	Inkubálás szobahomérsékleten (18–25°C) horizontális rázon.
	Leszivás
3 x 2 mL	Mosás desztillált vizzel
1 min	Mérés (szcintillácios gammaszámlálo)

*** Tartsa a keverési értékeket egyenletesen!**
Optimum:
Amplitudo 20 mm = 150 rpm
Amplitudo 10 mm = 220 rpm
Amplitudo < 8 mm = 300 rpm

Eredmény kiértékelés

A kalibrácios gorbe manuálisan a kovetkezoképpen határozhato meg:

1. Számolja ki valamennyi cso duplikátum átlag CPM értékét.
2. Ossza el valamennyi kalibrátor átlag CPM értékét (B) a legmagasabb kalibrátor átlag CPM értékével (B_{max}) és szorozza meg 100-al, igy megkapja valamennyi kalibrátor relative beépulési százalékát (%B/B_{max}).
3. Semi-log papiron, ábrázolja a relativ beépulési százalékokat (%B/B_{max}) az Y-tengelyen a hozzátartozo koncentráciok fuggvényében (X-tengely).
4. Olvassa le a minták koncentrácioját (U/mL) a kalibrácios gorbérol a megfelelo relativ beépulési százalék alapján (%B/B_{max}).

Azokat a mintákat, amelyek értéke magasabb, mint a legmagasabb kalibrátor koncentrácioja meg kell higitani higitoval, és ujbol le kell mérni. Ezen minták végso eredményének a meghatározásakor a higitási faktort figyelembe kell venni.
Készulékkel torténo immunoassay kiértékelésénél spline illesztést kell alkalmazni.

Minoségbiztositás

Tartsa szem elott a diagnosztikai laboratoriumokra vonatkozo minoségbiztositási alapelveket.

Az eredmények érvényesitéséhez és pontosságának megállapitásához használjon kontroll szérumot, vagy szérum pool-t.

A kontrollt minden futtatásnál egyidejuleg mérni kell, ezek a kontrollok ugy kezelendoek, mintha minták lennének.

A várt kontroll tartomány a kontroll cimkéjén van feltuntetve.

Várt értékek

Egészséges személyek (n=200) CA 15-3 szérum koncentcioja 15.5 U/mL ± 12.5 U/mL kozotti értéket adott (átlag ± 2 x SD).

A CA 15-3 érték laboratoriumi metodika-fuggo, ezért javasolt a saját referencia tartomány felállitása.

Az eljárás korlátai

A carcinomás betegek CA 15-3 értéke a normal tartományba eshet. Emelkedett érték figyelheto meg az emlo, petefészek, és a máj benignus (2,3) elváltozásaban vagy máj-, petefészek-, emlo endometriális carcinomában (1,5).

Ezért a CA 15-3 eredmények csak a klinikai képpel és más diagnosztikai eredményekkel osszefuggésben interpretálhatoak.

HAMA

A beteg minták human anti-egér antitesteket tartalmaznak (HAMA), mely fals emelkedést, vagy csokkenést eredményezhet. Bár HAMA-neutralizálo ágens kerul hozzáadásra, extrém magas HAMA szérum koncentrácio ritkán befolyásolhatja az eredményt. Ezekhez a mintákhoz nem használhato a CA 15-3 IRMA assay.

Analitikai adatok

Kalibrácio

A teszt hitelesitéséhez a Fujirebio IRMA CA 15-3® assay-t használták.

Mérési tartomány

A mérési tartomány 2 - 300 U/mL kozott van.

High-dose hook

High-dose hook effektus nem figyelheto meg 12,300 U/mL koncentrácio tartományig.

Precizio

Intra-assay variácio			Inter-assay variácio		
Tartomány (U/mL)	CV (%)	n=	Tartomány (U/mL)	CV (%)	n=
20 - 50	2.9	17	20 - 50	4.9	3
70 - 130	2.8	53	70 - 130	4.2	3

Analitikai szenzitivitás

Az also detektálási határ < 2.0 U CA 15-3/mL. Ez a detektálási határ 2 SD-vel haladja meg a zéro standard értéket; ez a legkisebb koncentrácio, amelynek a zéro standardtol valo eltérése már statisztikailag szignifikáns.

Specificitás

Gyogyszer okozta interferencia.

Nincs keresztreakcio a doxorubicin-nal, fluorouracil-lal, methotrexate-tal, cyclophosphamide-dal és tamoxifen-nel terápiás tartományban.

Higitási linearitás

Beteg minták kerultek higitásra és mérésre. A mért és várt értékek lineáris regresszioval kerultek osszevetésre.

Eredeti koncentrácio: 241 U/mL.

Higitás	Mért érték (U/mL)	Várt érték (U/mL)	Visszanyerés (%)
1 : 1.25	194	193	101
1 : 2.5	95	97	98
1 : 5	45	48	94
1 : 10	23	24	96

Visszanyerés

Alacsony CA 15-3 tartalmu mintákhoz kulonbozo mennyiségu CA 15-3 kerult hozzáadásra és lemérésre.

Eredeti kocentrácio: 8.3 U/mL.

Mért érték (U/mL)	**Várt érték (U/mL)**	**Visszanyerés (%)**
30.8	31.8	97
27.2	26.0	105
21.5	20.0	107
15.9	14.1	112
11.6	11.2	104

IVD Pouze pro laboratorní použití

Použití soupravy

Iin vitro souprava pro kvantitativní stanovení antigenu CA 15-3® (DF3) v lidském séru v rámci sledování pacientů s karcinomem prsu.

Souhrn a vysvětlení testu

Antigen CA 15-3 provázející tumor je definován pomocí dvou různých monoklonálních protilátek - Mab 115D8 a Mab DF3.

Mab 115D8 se tvoří proti povrchovému antigenu MAM-6 (s vysokou molekulovou hmotností 400 000), zjištěném u lidských epiteliálních buněk mléčné žlázy a většiny buněk karcinomu prsu (7).

Mab DF3 se tvoří proti membránovým antigenům buněk karcinomu prsu (8). Tato monoklonální protilátka reaguje s epitopem označovaným DF3, který byl poprvé nalezen jako součást glykoproteinu s molekulovou hmotností 290 000. Zvýšené hladiny antigenu CA 15-3 jsou nalézány u pacientů s karcinomem prsu (4,6).

Vzhledem k vysoké citlivosti vyšetření u metastatického postižení je stanovení antigenu CA 15-3 velmi důležité při monitorování pacientů s karcinomem prsu, obzvláště při diagnostice a sledování terapie recidivy choroby (9,10,11).

Princip metodiky

Souprava CA 15-3 IRMA je imunoradiometrické stanovení s využitím dvou vazebných míst (sendvičový princip). Jako pevná fáze (potahovaná zkumavka) je použita monoklonální protilátka 115D8, monoklonální protilátka DF3 je použita pro radioindikátor.

Značená protilátka a protilátka, jíž je zkumavka potažena, reagují současně s antigenem CA 15-3 přítomným ve vzorcích nebo standardech. Po vymytí nenavázaného radioindikátoru se v gama-čítači změří radioaktivita navázaná na stěnu zkumavky.

Reagencie

Počet stanovení:	**50**
Monoklonální (myší) protilátka anti-CA 15-3 značená ^{125}I *(^{125}I-anti-CA 15-3)* barvená červeně,	6 ml
aktivita (kBq / µCi):	< 385 /10
6 standardů A-F *(Calibrators A-F)* (1,0 ml) ve fosfátovém pufru -	1 sada
Diluent *(Diluent)* (0 U/ml), ve fosfátovém pufru:	110 ml
Zkumavky potažené monoklonální (myší) protilátkou proti CA 15-3 *(Test tubes)*	50
Kontrolní sérum *(Control)*, lidské, lyofilizát (koncentrace: viz lahvička):	0,5 ml

CA125™ je obchodní název firmy Fujirebio Diagnostics Inc.

Potřebný, ale nedodávaný materiál

- Mikropipety (20 µl, 100 µl, 500 µl) s vyměnitelnými plastovými špičkami, nastavitelná pipeta (2000 µl)
- Vibrační míchadlo (vortex)
- Ruční nebo automatická promývačka s odsávacím zařízením
- Horizontální třepačka
- Gama-čítač
- - případně vhodný automatický analyzátor
- Nepotažené polystyrenové zkumavky pro naředění séra a kontrol
- Destilovaná voda

Reagencie obsahující ^{125}I

Tato souprava obsahuje radioaktivní materiál, jehož aktivita nepřesahuje 372 kBq (10,1 µCi) ^{125}I. Během zacházení s radioaktivními materiály a při jejich likvidaci je nutno se řídit platnými právními předpisy a zásadami správné laboratorní praxe.

Pro profesionály a instituce, kterým jsou dodávány radioizotopy podle všeobecné licence:

Tento radioaktivní materiál mohou nabývat, získat, přechovávat a používat pouze lékaři a veterinární lékaři na svých pracovištích, klinické laboratoře nebo nemocnice s příslušnými povoleními a pouze pro diagnostické použití in vitro, které nezahrnuje vnitřní nebo vnější podání materiálu nebo záření z něj vycházejícího lidem nebo zvířatům. Jeho nabývání, získání, přechovávání, použití a přeprava se řídí národními předpisy a nařízeními.

1. Skladování radioaktivních materiálů je vyhrazeno pouze v místech k tomu určených.

2. Přístup k radioaktivnímu materiálu je umožněn pouze autorizovaným osobám.

3. Radioaktivní materiály nepipetujte ústy.

4. Na určeném pracovním místě nejezte, nepijte nebo nekuřte.

5. Rozlitý materiál setřete a veškeré kontaminované plochy umyjte pomocí vhodného roztoku saponátu nebo dekontaminačním roztokem. Použité laboratorní sklo má být dostatečně vypláchnuto vodou a teprve poté přidáno k mytí s ostatním nádobím.

Pro profesionály a instituce, kterým jsou dodávány radioizotopy podle specifické licence:

Příjem, použití, doprava a likvidace radioaktivních materiálů podléhají pravidlům a podmínkám vaší specifické licence.

VAROVÁNÍ: Souprava obsahuje karcinogenní chemikálie.

UPOZORNĚNÍ: Množství aktivity uváděné v tomto návodu se může mírně odlišovat od údajů na vnějším obalu a štítku lavičky s radioindikátorem ^{125}I. Údaje na vnějším obalu a štítku lavičky s radioindikátorem uvádějí skutečnou hodnotu aktivity, návod uvádí hodnotu předpokládanou.

Reagencie obsahující azid sodný

UPOZORNĚNÍ: Některé složky tohoto kitu obsahují azid sodný jako konzervans. Azid sodný může reagovat s olověnými či měděnými vodoinstalacemi a vytvářet vysoce výbušné azidy kovových prvků. Při likvidaci zbytků reagencií proplachujte dostatečným množstvím vody, aby bylo zamezeno tvorbě těchto azidů. Podrobnější informace možno nalézt v kapitole „Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts“, v Manual Guide-Safety Management No. CDC-22, vydaného v Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 1976.

Příprava reagencií

Před provedením testu nechte všechny součásti soupravy vytemperovat na laboratorní teplotu (18 až 25 °C) a důkladně je promíchejte. **(Zamezte vzniku pěny).**

Lahvičku obsahující lyofilizované kontrolní sérum opatrně otevřete a rozřeďte 0,5 ml destilované vody. **(Zamezte vzniku pěny).** Zajistěte, aby se rozpustil také lyofilizovaný materiál přichycený na uzávěr.

Skladování reagencií

Rekonstituované kontrolní sérum může být skladováno 1 týden při teplotě 2 až 8 °C nebo 4 týdny při teplotě –20 °C.

Veškeré ostatní reagencie skladujte při teplotě 2 až 8 °C do data exspirace uvedeného na obalu.

- Uchovávejte ve svislé poloze!

- Chraňte před přímým světlem!

Sběr, příprava a zacházení se vzorkem

- Sběr vzorků se zajišťuje běžnými metodikami.
- Jako vzorek se používá sérum. Případné interference s plasmou nejsou známy.
- Vzorky se mohou skladovat až 24 hodin při teplotě 2 až 8 °C.
- Pro skladování po delší dobu vzorky zmrazte na teplotu –20 °C.
- Zmrazené vzorky lze rozpustit pouze jednou.
- Tyto vzorky se musí bezprostředně před použitím důkladně promíchat (vibrační míchadlo).
- Nepoužívejte vzorky, které jsou sražené, lipemické, hemolytické, ikterické nebo kontaminované.

Interference stanovení s jinými analyty

Nebyla pozorována interference s následujícími analyty v hladinách:

< 0,125 mg/ml pro bilirubin
< 500 mg/dl pro hemoglobin
< 12,5 mg/ml pro triglyceridy

Poznámky k postupu

- Jednotlivé složky každého kitu jsou pečlivě vzájemně sladěny. V případě záměny nebo smíchání jakýchkoli složek z různých šarží výrobce nezaručuje spolehlivé výsledky.
- Přísně dodržujte pořadí pipetovacích kroků.
- Čas měření na gama-čítači musí být upraven tak, aby měření radioaktivity trvalo alespoň 1 minutu.
- Dodržujte pokyny pro kontrolu kvality v klinických laboratořích.
- Zamezte mikrobiální kontaminaci reagencií.
- **Promývání zkumavek po celých stojáncích je zakázáno. Promývací kapalina musí být ze zkumavek odsáta bezprostředně po přidání.**

Postup testu

Doporučuje se stanovovat standardy a vzorky v duplikátech.

Varianta k ručnímu zpracování soupravy a výpočtu výsledků je použití automatizovaného analyzátoru, v zodpovědnosti laboratoře.

Předředění vzorků a kontrol

Vzorky a kontroly se musí před stanovením naředit (1:101).
Jako alternativu k manuálnímu stanovení a jeho vyhodnocení lze použít odpovídající automatický analytický systém (na vlastní odpovědnost laboratoře).

1. Do nepotažených zkumavek napipetujte 2000 µl diluentu.
2. Přidejte 20 µl kontroly nebo vzorku a důkladně promíchejte.

Pokud se očekávají výsledky vyšší, než hodnota nejvyššího standardu, musí se vzorky naředit diluentem (faktory např. 10, 100, 1000).

Důležité upozornění:
Veškeré vzorky a kontroly musejí být před testováním předředěny, dokonce i když zvýšené sérové hladiny CA 15-3® (nad rozmezí standardů) nutně vyžadují další ředění. Standardy kitu nepředřeďujte.

3. Na dno potažené zkumavky napipetujte 100 µl neředěného standardu, předředěné kontroly nebo vzorku.
4. Přidejte 100 µl ^{125}I-anti-CA 15-3®, mírně zamíchejte.

5. Všechny zkumavky inkubujte 2 hodiny (± 5 minut) při laboratorní teplotě (18 až 25 °C) v horizontální třepačce*.
6. Kapalinu odsajte.
7. Každou zkumavku promyjte 3 x 2 ml destilované vody.
8. Ve všech zkumavkách změřte radioaktivitu (cpm), doba měření min. 1 minuta.

Předředění vzorků a kontrol

2000 µl	Do nepotažených zkumavek napipetujte diluent
20 µl	Napipetujte kontrolu nebo vzorek
	Promíchejte
100 µl	Na dno odpovídající potažené zkumavky napipetujte neředěný standard, předředěnou kontrolu nebo předředěný vzorek
100 µl	Přidejte ^{125}I-anti-CA 15-3® (červený roztok)
	Promíchejte
2 h (± 5 minut)	Inkubujte při laboratorní teplotě (18 až 25 °C), na horizontální třepačce*
	Odsajte
3 x 2 ml	Promyjte destilovanou vodou
1 min	Změřte (gama-čítač)

* Podmínky třepání udržujte konstantní**!**
Optimum:
Amplituda 20 mm = 150 otáček za minutu *(rpm)*
Amplituda 10 mm = 220 otáček za minutu *(rpm)*
Amplitude < 8 mm = 300 otáček za minutu *(rpm)*

Výpočet výsledků
Kalibrační křivka se ručně sestaví následujícím způsobem:

1. Pro každý pár duplikátních zkumavek stanovte střední hodnotu cpm (počet impulsů za minutu).
2. Vydělte střední hodnotu cpm každého standardu (B) střední hodnotou cpm nejvyššího standardu (B_{max}) a vynásobte 100x k získání procenta relativní vazby (%B/B_{max}) pro každý standard.
3. Na semilogaritmickém papíru vyneste relativní vazbu každého standardu na osu Y proti odpovídajícím koncentracím (U/ml) na ose X.
4. Koncentrace vzorků (U/ml) odečtěte přímo z kalibrační křivky podle odpovídající hodnoty relativní vazby (%B/B_{max}).

Vzorky s četností impulsů vyššími než nejvyšší standard se musí naředit diluentem ze soupravy a znovu stanovit. Skutečné koncentrace naředěných vzorků se zjistí po vynásobení ditučním faktorem. Zpráva o kontrole kvality obsahuje příklad kalibrační křivky. Tato křivka se nesmí použít při výpočtu neznámých vzorků.

Při hodnocení radioimunologického stanovení pomocí výpočetní techniky použijte výpočet typu spline.

Kontrola kvality

Dodržujte pokyny pro kontrolu kvality v klinických laboratořích.

Validita a přesnost výsledků se musí kontrolovat pomocí kontrolních sér nebo sér připravených laboratoří.

Kontrolní sérum obsažené v kitu je vhodně upraveno pro použití při interní kontrole prováděné v laboratoři. Toto kontrolní sérum se musí testovat současně v každé sérii analýz za stejných podmínek jako vzorky.

Očekávané hodnoty

U zdravých dospělých jedinců (n=200) byly nalezeny sérové koncentrace CA 15-3® ve výši 15,5 U/ml ± 12,5 U/ml (střední hodnota ± 2 x směrodatná odchylka).

Vzhledem k tomu, že hodnoty CA 15-3® se mohou lišit v závislosti na použité laboratorní metodě, musí si každá laboratoř stanovit své vlastní referenční rozmezí.

Omezení metodiky

Pacienti s maligními onemocněními mohou vykazovat hodnoty CA 15-3® v normálním rozmezí. Zvýšené hodnoty mohou být pozorovány u pacientů s benigními chorobami prsu, vaječníků a jater (2,3) nebo s ovariálním a endometriálním karcinomem (1,5).

Sérové hladiny CA 15-3® tedy mohou být interpretovány pouze v kontextu s klinickým obrazem a dalšími diagnostickými postupy.

HAMA

Vzorky pacientů obsahující lidské protilátky proti myším protilátkám (HAMA) mohou vykazovat falešně zvýšené nebo snížené hodnoty. K reagenciím soupravy se přidávají látky neutralizující HAMA, přesto nelze ovlivnění výsledků stanovení vyloučit. Tyto vzorky se nesmějí pro stanovení soupravou IRMA-mat® CA 15-3® použít.

Analytické parametry soupravy

Kalibrace

Souprava byla kalibrována za použití soupravy Fujirebio CA 15-3.

Rozsah měření

Souprava umožňuje měření koncentrací mezi 2 a 300 U/ml.

High-dose hook

Při hladinách CA 15-3 do hodnoty 12 300 U/ml nebyl uvedený jev pozorován.

Přesnost

Inter-assay			Intra-assay		
rozmezí (U/ml)	CV (%)	n=	rozmezí (U/ml)	CV (%)	n=
20 – 50	2,9	17	20 – 50	4,9	3
70 – 130	2,8	53	70 – 130	4,2	3

Analytická senzitivita

Detekční limit soupravy je nižší než 2,0 U CA 15-3/ml. Tento limit je definován jako hodnota lišící se od nulového standardu o 3 směrodatné odchylky, je to nejnižší koncentrace CA 15-3, kterou lze se statistickou významností rozlišit od nuly.

Specificita

Interference s léčivými látkami:

Nebyly zjištěny žádné zkřížené reakce s cyklofosfamidem, doxorubicinem, fluorouracilem, methotrexátem a tamoxifenem v terapeutických hladinách.

Linearita při ředění

Vzorek byl naředěn diluentem a poté změřen. Naměřené hodnoty byly porovnány s hodnotami očekávanými pomocí výpočtu lineární regresí.

Původní koncentrace: 241 U/ml.

Ředění	Změřená hodnota (U/ml)	Očekávaná hodnota (U/ml)	Recovery (%)
1 : 1,25	194	193	101
1 : 2,5	95	97	98
1 : 5	45	48	94
1: 10	23	24	96

Recovery
Ke vzorku s nízkou koncentrací CA 15-3 byla přidána různá množství CA 15-3®.

Původní koncentrace: 8,3 U/ml.

Změřená hodnota (U/ml)	Očekávaná hodnota (U/ml)	Recovery (%)
30,8	31,8	97
27,2	26,0	105
21,5	20,0	107
15,9	14,1	112
11,6	11,2	104

IVD Μόνο για χρήση από επαγγελματίες!

Χρήση για την οποία προορίζεται

Εξέταση *in vitro* για τον ποσοτικό προσδιορισμό του αντιγόνου CA 15-3® (DF3 ορισμένου αντιγόνου) σε ανθρώπινο ορό κατά την παρακολούθηση ασθενών με καρκίνωμα του μαστού.

Περίληψη και ερμηνεία της δοκιμής

Το αντιγόνο CA 15-3, το οποίο σχετίζεται με νεοπλάσματα, φέρει τα επίτοπα των δύο διαφορετικών μονοκλωνικών αντισωμάτων, Mab 115D8 και Mab DF3. Το Mab 115D8 παράχθηκε έναντι του επιφανειακού αντιγόνου MAM-6 (MB 400.000) που συναντάται σε επιθηλιακά κύτταρα του μαστικού αδένα και στα περισσότερα κύτταρα καρκινώματος του μαστού (7).

Το Mab DF3 σχηματίστηκε έναντι αντιγόνων μεμβράνης των κυττάρων μαστικού καρκινώματος (8).

Το μονοκλωνικό αντίσωμα αντιδρά με ένα επίτοπο, που καλείται DF3, σε μια γλυκοπρωτεΐνη με μοριακό βάρος 290.000. Βρέθηκαν αυξημένες τιμές προσδιορισμού CA 15-3 σε ασθενείς με καρκίνωμα του μαστού (4,6).

Λόγω της υψηλής ευαισθησίας του για μεταστατικό καρκίνωμα του μαστού, ο προσδιορισμός CA 15-3 είναι ιδιαίτερα κατάλληλος γα τη διάγνωση της υποτροπής και την παρακολούθηση της υποτροπής της θεραπείας (9, 10, 11).

Αρχές της διαδικασίας

Αποτελεί ανοσοραδιομετρικό προσδιορισμό που βασίζεται στην αρχή του "σάντουιτς". Το μονοκλωνικό αντίσωμα 115D8 χρησιμοποιείται για την επικάλυψη της στερεής φάσης (επικαλυμμένος δοκιμαστικός σωλήνας) και το μονοκλωνικό αντίσωμα DF3 χρησιμοποιείται ως ιχνηθέτης.

Το αντίσωμα επικάλυψης και το αντίσωμα ιχνηθέτη αντιδρούν σε ένα βήμα αντίδρασης με το CA 15-3 που υπάρχει στους βαθμονομητές και στα δείγματα ασθενών. Μετά την απομάκρυνση του πλεονάζοντος ιχνηθέτη με ένα βήμα πλύσης, μετράται η ραδιενέργεια που είναι δεσμευμένη στο τοίχωμα του δοκιμαστικού σωλήνα με μετρητή σπινθηρισμών γάμα.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ Υλικά που παρέχονται

Προσδιορισμοί	**50**
^{125}I-anti-CA 15-3, μονοκλωνικό (ποντικού), ερυθρό περιεχόμενο ραδιενέργειας (kBq / µCi)	6 mL < 385 /10
6 βαθμονομητές A έως F (1,0 mL) σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (για συγκεντρώσεις, ανατρέξτε στην αναφορά ποιοτικού ελέγχου)	1 σετ
Αραιωτικό (0 U/mL) σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών	110 mL
Δοκιμαστικοί σωλήνες, επικαλυμμένοι με anti-CA 15-3, μονοκλωνικό (ποντικού)	50
Υλικό ελέγχου, ανθρώπινο, λυοφιλιώμενο (για συγκεντρώσεις, βλ. ετικέτα φιαλιδίου)	0.5 mL

Υλικά που απαιτούνται, αλλά δεν παρέχονται

- Μικροπιπέτες (20 µL, 100 µL, 500 µL) με αναλώσιμες πλαστικές μύτες, πολυπιπέτα (2000 µL)
- Όργανο περιδίνησης (vortex)
- Χειροκίνητη ή αυτόματη συσκευή πλύσης με συσκευή αναρρόφησης
- Οριζόντιος αναδευτήρας
- Μετρητής σπινθηρισμών γάμα
- Εναλλακτικά, ένα κατάλληλο αυτοματοποιημένο σύστημα αναλυτή, αν διατίθεται
- Δοκιμαστικοί σωλήνες πολυστυρενίου χωρίς επικάλυψη για την αραίωση του ορού και των υλικών ελέγχου
- Κεκαθαρμένο νερό

Αντιδραστήρια που περιέχουν ιώδιο 125

Το κιτ αυτό περιέχει ραδιενεργό υλικό το οποίο δεν υπερβαίνει τα 10,1 µCi (372 kBq) σε ιώδιο 125. Κατά τη φύλαξη, το χειρισμό και τη διάθεση του υλικού αυτού, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται κατάλληλες προφυλάξεις και καλές εργαστηριακές πρακτικές.

Προς ιατρούς ή ιδρύματα που παραλαμβάνουν ραδιοϊσότοπα κάτω από γενική άδεια:

Το παρόν ραδιενεργό υλικό μπορεί να ληφθεί, να αποκτηθεί, να κατέχεται και να χρησιμοποιείται μόνο από ιατρούς, κτηνίατρους που ασκούν κτηνιατρική ιατρική, κλινικά εργαστήρια ή νοσοκομεία και μόνο για κλινικές ή εργαστηριακές δοκιμές in vitro που δεν περιλαμβάνουν την εσωτερική ή εξωτερική χορήγηση του υλικού, ή της ακτινοβολίας αυτού, σε ανθρώπους και ζώα. Η παραλαβή, η απόκτηση, η κατοχή, η χρήση και η μεταφορά υπόκεινται στους κανονισμούς και τη γενική άδεια της Ρυθμιστικής Επιτροπής Πυρηνικών των Η.Π.Α. (NRC) ή της πολιτείας με την οποία η επιτροπή έχει συνάψει συμφωνία για την άσκηση καθηκόντων αρμόδιας αρχής.

1. Η φύλαξη του ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να περιοριστεί σε ειδικά επισημασμένο χώρο.
2. Η πρόσβαση σε ραδιενεργά υλικά πρέπει να περιοριστεί μόνο σε εξουσιοδοτημένο προσωπικό.
3. Μη χρησιμοποιείτε πιπέτα με το στόμα για ραδιενεργά διαλύματα.
4. Μην τρώτε ή πίνετε εντός των χώρων εργασίας που έχουν επισημανθεί ως ραδιενεργοί.
5. Οι περιοχές, όπου ενδεχομένως έχουν προκληθεί εκχύσεις, θα πρέπει να σκουπιστούν και κατόπιν να πλυθούν με αλκαλικό απορρυπαντικό ή ραδιολογικό απολυμαντικό διάλυμα. Τυχόν γυάλινα σκεύη χρησιμοποιήθηκαν πρέπει να εκπλυθούν καλά με νερό πριν από την πλύση άλλων εργαστηριακών γυάλινων σκευών.

Προς ιατρούς ή ιδρύματα που παραλαμβάνουν ραδιοϊσότοπα κάτω από ειδική άδεια:

Η παραλαβή, η χρήση, η μεταφορά και η διάθεση των ραδιενεργών υλικών υπόκεινται στους κανονισμούς και τις συνθήκες της ειδικής άδειάς σας.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ: Το προϊόν αυτό περιέχει μια χημική ουσία η οποία είναι γνωστό από την πολιτεία της Καλιφόρνια ότι προκαλεί καρκίνο.

ΠΡΟΣΟΧΗ: Η ραδιενέργεια που αναγράφεται στο ένθετο συσκευασίας μπορεί να διαφέρει ελαφρώς από τη ραδιενέργεια που αναγράφεται στην ετικέτα συσκευασίας ή στην ετικέτα φιαλιδίου ιχνηθέτη. Η ετικέτα συσκευασίας και η ετικέτα φιαλιδίου ιχνηθέτη υποδεικνύουν την πραγματική ποσότητα ραδιενέργειας κατά την ημερομηνία βαθμονόμησης, ενώ το ένθετο συσκευασίας υποδεικνύει τη θεωρητική ραδιενέργεια του κιτ.

Αντιδραστήρια που περιέχουν αζίδιο του νατρίου

ΠΡΟΣΟΧΗ: Μερικά αντιδραστήρια στο κιτ αυτό περιέχουν αζίδιο του νατρίου. Το αζίδιο του νατρίου μπορεί να αντιδράσει με τις σωληνώσεις μολύβδου ή χαλκού και να σχηματίσει εξαιρετικά εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Κατά την απόρριψη, εκπλύνετε με άφθονη ποσότητα νερού για να εμποδίσετε τη συσσώρευση αζιδίων. Για πρόσθετες πληροφορίες, ανατρέξτε στην ενότητα “Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts”, στον οδηγό διαχείρισης ασφάλειας με κωδικό CDC-22 που εκδίδεται από τα Κέντρα για τον Έλεγχο και την Πρόληψη Νόσων στην Ατλάντα της Τζόρτζια, 1976.

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Αφήστε τα συστατικά της εξέτασης να φτάσουν σε θερμοκρασία δωματίου (18 έως 25°C) πριν την εξέταση και αναμίξτε καλά. **(Να μη σχηματιστεί αφρός).**

Ανοίξτε προσεκτικά το φιαλίδιο με το υλικό ελέγχου (και εκτελέστε ανασύσταση με 0,5 mL απεσταγμένου νερού. **(Να μη σχηματιστεί αφρός).** Βεβαιωθείτε ότι έχει διαλυθεί και το λυοφιλιωμένο υλικό που είναι προσκολλημένο στο καπάκι.

Φύλαξη αντιδραστηρίων

Ανασυσταθέν υλικό ελέγχου: 1 εβδομάδα στους 2 έως 8°C ή 4 εβδομάδες στους –20°C.

Φυλάξτε όλα τα άλλα αντιδραστήρια στους 2 έως 8°C. Χρησιμοποιήστε πριν την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη συσκευασία.

Οι ανοιγμένοι δοκιμαστικοί σωλήνες θα πρέπει να φυλάσσονται στη βάση δοκιμαστικών σωλήνων. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του κιτ.

- Φυλάσσετε σε όρθια θέση.

- Μακριά από άμεσο φως.

Δειγματοληψία, υλικά και φύλαξη

- Συλλέξτε δείγματα με χρήση πρότυπων διαδικασιών.
- Υλικά δείγματος: ορός. Δεν είναι γνωστές οι διαταραχές λόγω του πλάσματος.
- Φυλάσσετε στους 2 έως 8°C: 24 ώρες
- Για φύλαξη για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα: Καταψύξτε στους –20°C.
- Η κατάψυξη και απόψυξη των δειγμάτων μία φορά δεν επηρεάζει τα αποτελέσματα της εξέτασης.
- Θα πρέπει να αναμιγνύεται καλά τα αποθηκευμένα δείγματα πριν από τη χρήση (σε όργανο περιδίνησης).
- Μη χρησιμοποιείτε ορό με συγκολλήσεις ή λιπαιμικό, αιμολυμένο, ικτερικό ή μολυσμένο ορό.

Παρεμβαλλόμενες ουσίες

Δεν έχει παρατηρηθεί παρεμβολή στα αποτελέσματα της εξέτασης σε συγκεντρώσεις χολερυθρίνης <0,125 mg/mL, αιμοσφαιρίνης <500 mg/dL ή τριγλυκεριδίων <12,5 mg/mL.

Διαδικαστικές σημειώσεις

- Υπάρχει προσεκτική αντιστοιχία μεταξύ των ξεχωριστών συστατικών κάθε κιτ. Σε περίπτωση που ανταλλάσσονται ή αναμιγνύονται συστατικά διαφορετικών παρτίδων, ο κατασκευαστής
  δεν εγγυάται την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων.
- Τηρήστε αυστηρά τη σειρά των βημάτων διανομής με πιπέτα.
- Ρυθμίστε το χρόνο μέτρησης σε 1 τουλάχιστον λεπτό.
- Αυτό το κιτ εξέτασης δεν θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη συσκευασία.
- Τηρήστε τις κατευθυντήριες οδηγίες ποιοτικού ελέγχου για ιατρικά εργαστήρια.
- Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων.
- **Δεν είναι κατάλληλη η πλύση με έκχυση νερού από τη μία βάση στην άλλη. Το νερό πλύσης θα πρέπει να αναρροφηθεί από τους δοκιμαστικούς σωλήνες αμέσως μετά την προσθήκη του.**

Διαδικασία εξέτασης

Συνιστάται οι βαθμονομητές και τα δείγματα να μετριούνται εις διπλούν.

Ως εναλλακτικό της χειροκίνητης απόδοσης και αξιολόγησης, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ένα κατάλληλο σύστημα αυτοματοποιημένης ανάλυσης με ευθύνη του εργαστηρίου.

Προαραίωση των δειγμάτων και υλικών ελέγχου

Ο ορός ασθενή και τα υλικά ελέγχου θα πρέπει να αραιωθούν πριν από τον προσδιορισμό (1:101).

1. Τοποθετήστε με πιπέτα 2000 µL αραιωτικού σε μη επικαλυμμένους δοκιμαστικούς σωλήνες.

2. Προσθέστε 20 µL υλικού ελέγχου ή ορού και αναμίξτε καλά.

Σε περίπτωση που αναμένεται τιμές πάνω από τον υψηλότερο βαθμονομητή, θα πρέπει να αραιώσετε τα δείγματα περαιτέρω με το αραιωτικό (π.χ. παράγοντες 10, 100, 1000).

Σημαντικό:
Όλα τα δείγματα και υλικά ελέγχου πρέπει να προαραιωθούν πριν από την εξέταση, ακόμη κι αν τα αυξημένα επίπεδα ορού CA 15-3 (υψηλότερα από την περιοχή τιμών βαθμονόμησης) απαιτούν πρόσθετα βήματα αραίωσης. Τα πρότυπα δεν πρέπει να αραιωθούν.

3. Τοποθετήστε με πιπέτα 100 µL μη αραιωμένου βαθμονομητή, προαραιωμένου υλικού ελέγχου ή δείγματος ασθενή στο κάτω μέρος του επικαλυμμένου δοκιμαστικού σωλήνα.

4. Προσθέστε 100 µL ^{125}I-anti-CA 15-3 και αναμίξτε (όργανο περιδίνησης).

5. Επωάστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες για 2 ώρες (± 5 λεπτά) σε θερμοκρασία δωματίου (18 έως 25°C) σε οριζόντιο αναδευτήρα.*

6. Αναρροφήστε το υγρό.

7. Πλύνετε όλους τους δοκιμαστικούς σωλήνες 3 φορές με 2 mL κεκαθαρμένου νερού.

8. Μετρήστε τη ραδιενέργεια (CPM) σε όλους τους δοκιμαστικούς σωλήνες (1 τουλάχιστον λεπτό).

Προαραίωση των δειγμάτων ασθενών και υλικών ελέγχου

2000 µL	Τοποθετήστε με πιπέτα το αραιωτικό σε μη επικαλυμμένο δοκιμαστικό σωλήνα.
20 µL	Τοποθετήστε με πιπέτα το υλικό ελέγχου ή το δείγμα ασθενή.
	Ανάμιξη
100 µL	Τοποθετήστε με πιπέτα το μη αραιωμένο βαθμονομητή, το προαραιωμένο υλικό ελέγχου ή το προαραιωμένο δείγμα ασθενή στο κάτω μέρος ενός δοκιμαστικού σωλήνα.
100 µL	Προσθέστε ^{125}I-anti-CA 15-3
	Ανάμιξη
2 ώρες (± 5 λεπτά)	Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου (18 έως 25°C) με αναδευτήρα*
	Αναρρόφηση
3 x 2 mL	Πλύνετε με κεκαθαρμένο νερό.
1 λεπτό	Μετρήστε (μετρητής σπινθηρισμών γάμα)

*** Διατηρήστε σταθερές τις συνθήκες ανάδευσης!**
Βέλτιστες συνθήκες:
Ύψος 20 χλστ. = 150 σ.α.λ.
Ύψος 10 χλστ. = 220 σ.α.λ.
Ύψος < 8 χλστ. = 300 σ.α.λ.

Υπολογισμός αποτελεσμάτων

Μπορείτε να υπολογίσετε την καμπύλη βαθμονόμησης ως εξής:

1. Υπολογίστε το μέσο CPM για κάθε ζεύγος δοκιμαστικών σωλήνων.
2. Διαιρέστε το μέσο CPM κάθε βαθμονομητή (B) με το μέσο CPM του υψηλότερου βαθμονομητή (B_{max}) και πολλαπλασιάστε με 100 για να έχετε το ποσοστό της σχετικής δέσμευσης (%B/B_{max}) για κάθε βαθμονομητή.
3. Σε ημιλογαριθμικό χαρτί, σχεδιάστε τις σχετικές δεσμεύσεις για κάθε βαθμονομητή (%B/B_{max}) στον άξονα Y συναρτήσει των αντίστοιχων συγκεντρώσεων στον άξονα X.
4. Μπορείτε κατόπιν να υπολογίσετε τις συγκεντρώσεις των δειγμάτων (U/mL) κατευθείαν από την καμπύλη βαθμονόμησης με τη βοήθεια της αντίστοιχης σχετικής δέσμευσής τους (%B/B_{max}).

Σε περίπτωση που η μετρούμενη ραδιενέργεια βρίσκεται πάνω από τον υψηλότερο βαθμονομητή, θα πρέπει να αραιώσετε τα δείγματα με αραιωτικό και να τα μετρήσετε ξανά. Για τα αραιωμένα δείγματα, πρέπει να υπολογιστεί η πραγματική συγκέντρωση ορού και ο κατάλληλος παράγοντας αραίωσης.

Ο υπολογισμός με όργανο των ραδιοανοσολογικών μετρούμενων τιμών εκτελείται με χρήση της προσαρμογής spline.

Ποιοτικός έλεγχος

Τηρήστε τις κατευθυντήριες οδηγίες ποιοτικού ελέγχου για ιατρικά εργαστήρια.

Θα πρέπει να ελέγχετε την εγκυρότητα και την ακρίβεια των αποτελεσμάτων με ορό ελέγχου ή μίγμα από ορούς που έχει παρασκευαστεί από το εργαστήριο.

Το υλικό ελέγχου που συμπεριλαμβάνεται στο κιτ αυτό είναι κατάλληλο για εσωτερικό ποιοτικό έλεγχο στο εργαστήριο.

Θα πρέπει να εξετάζετε αυτό το υλικό ελέγχου ταυτόχρονα σε κάθε εκτέλεση εξέτασης και να το χειρίζεστε όπως τα δείγματα ασθενών. Η αναμενόμενη περιοχή τιμών του υλικού ελέγχου αναγράφεται στην ετικέτα του υλικού ελέγχου.

Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Σε υγιείς ενήλικες (n=200) βρέθηκαν συγκεντρώσεις ορού CA 15-3 15,5 U/mL ± 12,5 U/mL (μέσος όρος ± 2 x τυπική απόκλιση).

Επειδή οι τιμές CA 15-3 μπορούν να διαφέρουν ανάλογα με την εργαστηριακή μέθοδο που χρησιμοποιείται, κάθε εργαστήριο θα πρέπει να πιστοποιήσει τη δική του περιοχή τιμών αναφοράς.

Περιορισμοί της διαδικασίας

Οι ασθενείς με καρκινώματα ενδεχομένως να παρουσιάσουν τιμές προσδιορισμού CA 15-3 εντός των φυσιολογικών τιμών αναφοράς. Αυξημένα επίπεδα συναντώνται σε καλοήθεις διαταραχές του μαστού, των ωοθηκών ή του ήπατος (2,3), ή σε καρκίνωμα των ωοθηκών ή του ενδομητρίου (1,5).

Επομένως, η ερμηνεία των επιπέδων προσδιορισμού CA 15-3 μπορεί να γίνει μόνο σε συνδυασμό με άλλα κλινικά ευρήματα και διαγνωστικές διαδικασίες.

HAMA

Η πλειοψηφία των δειγμάτων ασθενών που περιέχουν ανθρώπινα αντισώματα έναντι ποντικιού (HAMA) ενδεχομένως να παρουσιάσουν ψευδώς αυξημένες ή μειωμένες τιμές. Στην εξέταση προστίθενται μέσα εξουδετέρωσης HAMA. Ωστόσο, δεν μπορεί να αποκλειστεί η επίδρασή των αποτελεσμάτων. Τα δείγματα αυτά δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για το CA 15-3 IRMA.

Αναλυτικά δεδομένα

Βαθμονόμηση

Το CA 15-3 IRMA έχει βαθμονομηθεί με χρήση του προσδιορισμού Fujirebio CA 15-3.

Περιοχή τιμών μέτρησης

Η περιοχή τιμών μέτρησης είναι 2 έως 300 U/mL.

Φαινόμενο «άγκριστρου» υψηλής δόσης

Δεν παρατηρήθηκε φαινόμενο «άγκιστρου» υψηλής δόσης για συγκεντρώσεις έως 12.300 U/mL.

Ακρίβεια

Διακύμανση στον ίδιο προσδιορισμόΠεριοχή τιμών (U/mL)	ΣΔ (%)	n=	Διακύμανση μεταξύ σειράς προσδιορισμών Περιοχή τιμών (U/mL)	ΣΔ (%)	n=
20 έως 50	2,9	17	20 έως 50	4,9	3
70 έως 130	2,8	53	70 έως 130	4,2	3

Αναλυτική ευαισθησία

Το κατώτερο όριο ανίχνευσης είναι < 2,0 U CA 15-3/mL. Αυτό το όριο ανίχνευσης ορίζεται ως η τιμή που υπερβαίνει το μηδενικό πρότυπο κατά μια ποσότητα που ισούται με τρεις τυπικές αποκλίσεις. Είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση CA 15-3 που μπορεί να διαφοροποιηθεί από το μηδέν με στατιστική σημασία.

Ειδικότητα

Παρεμβολή από άλλα φάρμακα

Δεν βρέθηκε διασταυρούμενη αντιδραστικότητα με δοξορουβικίνη, φθοριοουρακίλη, μεθοτρεξάτη, κυκλοφωσφαμίδη και ταμοξιφαίνη σε θεραπευτικές περιοχές τιμών.

Γραμμικότητα κατά την αραίωση

Αραιώθηκε ορός ασθενή με αραιωτικό και κατόπιν μετρήθηκε. Οι μετρούμενες τιμές συγκρίθηκαν με τις αναμενόμενες τιμές που λήφθηκαν από γραμμική παλινδρόμηση.

Αρχική συγκέντρωση: 241 U/mL

Αραίωση	Μετρούμενη τιμή (U/mL)	Αναμενόμενη τιμή (U/mL)	Ανάκτηση (%)
1 : 1,25	194	193	101
1 : 2,5	95	97	98
1 : 5	45	48	94
1 : 10	23	24	96

Ανάκτηση

Ορός με χαμηλή συγκέντρωση CA 15-3 μολύνθηκε με διαφορετικές ποσότητες CA 15-3.

Αρχική συγκέντρωση: 8,3 U/mL

Μετρούμενη τιμή (U/mL)	Αναμενόμενη τιμή (U/mL)	Ανάκτηση (%)
30,8	31,8	97
27,2	26,0	105
21,5	20,0	107
15,9	14,1	112
11,6	11,2	104

References – Bibliografia – Références – References – Bibliografía – Irodalom – Odkazy – Βιβλιογραφία

1. Babilonti L, Riccardi A, Tateo S, Pavesi F, Lotzniker M, Polatti F. Tumor Antigens CA 125 and CA 15-3 as Markers of Endometrial Adenocarcinoma. J Nucl Med Allied Sci 1990; **34 (Suppl. 4)**: 79-83

2. Collazos J, Genollà J, Ruibal A. Breast Cancer-Associated Antigen CA 15.3 in Liver Cirrhosis. Acta Oncologica 1992; **31 (7)**: 741-744

3. Colomer R, Ruibal A, Genollà J, Salvador L. Circulating CA 15-3 antigen levels in nonmammary malignancies. Br J Cancer 1989; **59**: 283-286

4. Dnistrian AM, Schwartz MK, Greenberg EJ, Smith CA, Schwartz DC. CA 15-3 and carcinoembryonic antigen in the clinical evaluation of breast cancer. Clinica Chimica Acta 1991; **200**: 81-94

5. Einhorn N, Knapp RC, Bast RC, Zurawski VR. CA 125 Assay used in Conjunction with CA 15-3 and TAG-72 Assays for Discrimination between Malignant and Non-Malignant Diseases of the Ovary. Acta Oncologica 1989; **28 (5)**: 655-657

6. Hayes DF, Zurawski VR, Kufe DW. Comparison of Circulating CA 15-3 and Carcinoembryonic Antigen Levels in Patients With Breast Cancer. J Clin Oncol 1986; **4 (10)**: 1542-1550

7. Hilkens J, Buijs F, Hilgers J, Hageman P, Calafat J, Sonnenberg A, Van Der Valk M. Monoclonal Antibodies against Human Milk-Fat Globule Membranes detecting Differentiation Antigens of the Mammary Gland and its Tumors. Int J Cancer 1984; **34**:197-206

8. Kufe D, Inghirami G, Abe M, Hayes D, Justi-Wheeler H, Schlom J. Differential Reactivity of a Novel Monoclonal Antibody (DF3) with Human Malignant versus Benign Breast Tumors. Hybridoma 1984; **3 (3)**: 223-231

9. Molina R, Zanón G, Filella X, Moreno F, Jo J, Daniels M, Latre ML, Giménez N, Pahisa J, Velasco M, Ballesta AM. Use of serial carcinoembryonic antigen and CA 15.3 assays in detecting relapses in breast cancer patients. Breast Cancer Res & Treatment 1995; **36**: 41-48

10. Vizcarra E, Lluch A, Cibrián R, Jarque F, Alberola V, Belloch V, García-Conde J. Value of CA 15.3 in breast cancer and comparison with CEA and TPA: A study of specificity in disease-free follow-up patients and sensitivity in patients at diagnosis of the first metastasis. B reast Cancer Res & Treatment 1996; **37**: 209-216

11. Vizcarra E, Lluch A, Cibrián R, Jarque F, García-Conde J. CA 15.3, CEA and TPA Tumor Markers in the Early Diagnosis of Breast Cancer Relapse. Oncology 1994; **51**: 491-496

SYMBOLS USED WITH DEVICES

	English	Français	Deutsch	Español	Italiano
	European Conformity	Conformité aux normes européennes	CE – Konformitäts-kennzeichnung	Conformidad europea	Conformità europea
	Expiration Date	Date limite d'utilisation	Mindesthaltbar-keitsdatum	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Manufacturer	Fabricant	Hersteller	Fabricante	Fabbricante
	Consult Instructions for Use	Consulter les instructions d'utilisation	Gebrauchsanwei-sung beachten	Consulte las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso
IVD	In vitro diagnostic.	Diagnostic in vitro.	In-vitro-Diagnostikum.	Diagnóstico in vitro.	Diagnostica in vitro.
LOT	Lot No.	No. de lot	Chargen-Nr.	Número de lote	Lotto n°
	Temperature limitation.	Limitation de température.	Temperaturbereich	Limitación de temperatura	Limite della temperatura
CAL	Calibrator	Étalon	Kalibrator	Calibrador	Calibratore
CONTROL	Control serum	Sérum de contrôle	Kontrollserum	Suero de control	Siero di controllo
Ab ^{125}I	Tracer: antibody labelled with ^{125}I	Traceur : anticorps marqué à l'iode ^{125}	Tracer: ^{125}I-markierter Antikörper	Trazador: anticuerpo etiquetado con ^{125}I	Tracciatore: anticorpo etichettato con ^{125}I
DIL SPE	Sample diluent	Diluant d'échantillon	Proben-Diluent	Diluyente de muestras	Diluente campione
RCNS X mL	Reconstitute with X mL	Reconstituer avec X mL	Mit X mL auflösen	Reconstitución con X mL	Ricostituire con X mL
BUF	Buffer	Tampon	Puffer	Tampón	Tampone
SORB	Solid phase Coated tubes	Phase solide Tubes enduits	Festphase Beschichtete Teströhrchen	Fase sólida Tubos recubiertos	Fase solida Cannule con rivestimento.
	Radioactive	Radioactif	Radioaktiv	Radiactivo	Radioattivo

SYMBOLS USED WITH DEVICES CONTINUED ON NEXT PAGE.

CONTINUED FROM PREVIOUS PAGE - SYMBOLS USED WITH DEVICES

Symbol	Magyar	Česky	Ελληνικά
CE	European Conformity	Evropská shoda	Ευρωπαϊκή Συμμόρφωση
	Lejárati ido	Datum exspirace	Ημερομηνία Λήξης
	Gyárto	Výrobce	Κατασκευαστής
	Felhasználoi utmutato	Srovnejte s návodem pro použití	Συμβουλευτείτε τις Οδηγίες Χρήσης
IVD	In vitro diagnosztika	In vitro diagnostika	In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν.
LOT	Lot-szám	Číslo šarže	Αρ. παρτίδας
	Homérséklet tartomány	Teplotní omezení	Περιορισμοί θερμοκρασίας
CAL	Kalibrátor	Kalibrátor	Βαθμονομητής
CONTROL	Kontroll	Kontrolní sérum	Ορός μάρτυρα
Ab ^{125}I	Tracer: ^{125}I-tel jelolt antitest	Protilátka značená 125I	Ιχνηθέτης: Αντίσωμα σημασμένο με ^{125}I
DIL SPE	Minta higito	Diluent vzorku	Αραιωτικό δείγματος
RCNS X mL	Felodani X mL	Rozpusťte v X ml	Ανασύσταση με X mL
BUF	Puffer	Pufr	Ρυθμιστικό διάλυμα
SORB	Szilárd fázis, bevonatos cso	Zkumavky potažené pevnou fází	Στερεή φάση Επικαλυμμένοι δοκιμαστικοί σωλήνες
	Radioaktivitás	Radioaktivita	Ραδιενεργό





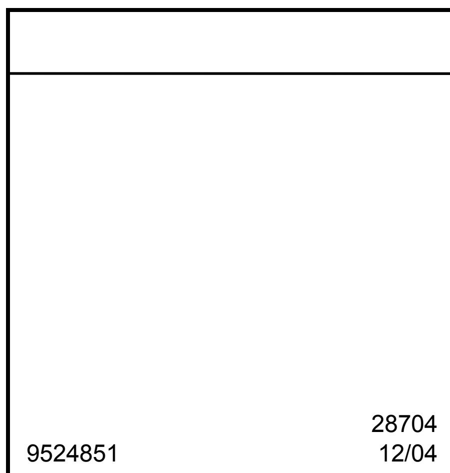


DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Avenue
P.O. Box 285
Stillwater, MN 55082-0285



DiaSorin S.p.A.,
13040 Saluggia (VC) Italy

Phone: 651-439-9710
FAX: 651-351-5669



PRINTED IN U.S.A.